



Gabriela Vieira Silva

“Efeito de plantas *Bt* de soja e milho sobre pragas não-alvo e seus inimigos naturais”

Curitiba
2013

Gabriela Vieira Silva

“Efeito de plantas *Bt* de soja e milho sobre pragas não-alvo e seus inimigos naturais”

Dissertação apresentada à
Coordenação do Curso de Pós-
Graduação em Ciências Biológicas,
Área de concentração em
Entomologia da Universidade Federal
do Paraná, como requisito parcial a
obtenção do título de Mestre em
Ciências Biológicas

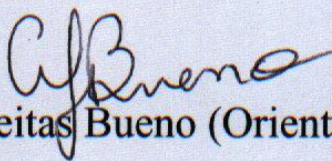
Orientador: Dr. Adeney de Freitas
Bueno

Curitiba
2013

GABRIELA VIEIRA SILVA

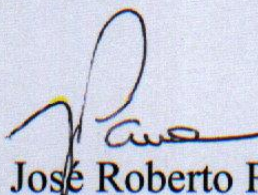
“Efeito de plantas Bt de soja e milho sobre pragas não-alvo e seus inimigos naturais”

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de “Mestre em Ciências Biológicas”, no Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Área de Concentração em Entomologia, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores:



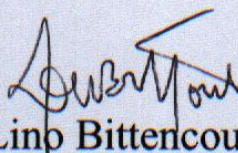
Dr. Adeney de Freitas Bueno (Orientador)

Embrapa Soja – Londrina/Paraná



Prof. Dr. José Roberto Postali Parra

ESALQ/USP



Prof. Dr. Lino Bittencourt Monteiro

*À todos aqueles que, movidos pela curiosidade, fazem da ciência fonte
preciosa de conhecimento,*

Dedico

*Aos meus pais Florisval e Simônica, por todo amor, incentivo e confiança, as minhas
irmãs Rafaela e Marcela e à tia Célia, pelo companheirismo, compreensão e apoio
para que mais uma etapa de minha vida pudesse ser cumprida.*

Dedico e Agradeço

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha vida;

Ao Dr. Adeney de Freitas Bueno pela orientação, oportunidade de realização dos trabalhos, pela amizade e principalmente por todo conhecimento a mim transmitidos;

Aos professores da Universidade Estadual do Norte do Paraná pelos ensinamentos, em especial à Prof. Dra. Laila Herta Mihsfeldt pela amizade e por despertar meu gosto pela entomologia, e a Prof. Dra. Jael S.S.Rando por todo incentivo;

À Universidade Federal do Paraná, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas-Entomologia e a todos os professores do programa, por todo o apoio e auxílio no meu crescimento e formação;

Ao Dr. Orcial Ceolin Bortolotto pelo auxílio na realização dos trabalhos, pelos conselhos, por toda a paciência e especialmente pela amizade;

À companheira de orientação Aline Farhat Pomari pela disposição em transmitir seus conhecimentos, assim como aos estagiários do laboratório da Embrapa Soja, Ana Paula Frugeri, Ana Paula Queiroz, Ynaiara Kristini e Gustavo Barbosa pelo companheirismo e ajuda com os trabalhos;

Aos técnicos do laboratório da Embrapa Soja, Carneiro e Mari Estela e a Equipe de Campo da Entomologia por toda ajuda na realização dos experimentos;

Ao meu querido Luiz Guilherme Lira de Arruda, pelo companheirismo, por dividir comigo todas as angústias, por me dar força para continuar, por toda paciência e especialmente por acreditar em mim;

Ao Professor Dr. Amarildo Pasini pela colaboração para realização do projeto;

Aos Professores Dr. José R. P. Parra, Dr. Lino B. Monteiro e Dr. Paulo H. Zarbin por
aceitarem fazer parte da banca examinadora desta dissertação;

A toda minha família, amigos de Barretos e de Bandeirantes e aos amigos Vinicius
Richard, Felícia Albuquerque, Liso Smaniotto, Diego Sousa, Mariana Cherman, Tatiana
Sepulveda, Oscar Aguirre e Daniel Negoseki e, em especial a Carla Floriano, por todos
os desafios que juntos ultrapassamos e principalmente por todas as risadas;

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa-Soja, pela disponibilização
de toda a infra-estrutura para que o projeto pudesse ser realizado;

Às empresas Monsanto Ltda e Dow AgroScience pela disponibilização de sementes
para realização dos experimentos;

À Capes, À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
(CAPES), pela concessão da bolsa de mestrado;

Enfim, à todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para essa conquista!

*Entre o bom senso e o desespero, opte pelas boas palavras,
delicados gestos e incansável paciência. E dentro da modéstia ganância de suas
possibilidades, continue acreditando!*

Gabriela Vieira Silva

RESUMO

“Efeito de plantas *Bt* de soja e milho sobre pragas não-alvo e seus inimigos naturais”

Autor: Gabriela Vieira Silva

Orientador: Adeney de Freitas Bueno

As plantas geneticamente modificadas resistentes a insetos (plantas *Bt*) tem apresentado eficiência no manejo de pragas em diversas culturas no mundo, mas ainda pouco se conhece sobre seus efeitos em organismos não-alvo (pragas e inimigos naturais). No Brasil, cultiva-se o milho *Bt*, entre eles o Herculex, que expressa a proteína Cry1F e o PowerCore, que expressa as proteínas Cry1F, Cry1A.105 e Cry2Ab2. A soja transgênica, que expressa a proteína Cry1Ac já foi liberada e em breve deve ser comercializada. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência dessas plantas *Bt* sobre aspectos biológicos de pragas não-alvo e seus inimigos naturais. Foram avaliados os aspectos biológicos de *Spodoptera eridania* (Cramer, 1784), *Spodoptera cosmioides* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Euschistus heros* (Fabricius, 1974) (Hemiptera: Pentatomidae) alimentados com a soja *Bt* MON 87701 x MON 89788 e sua isolinha não *Bt*, além da biologia comparada dos parasitoides de ovos *Telenomus remus* (Nixon, 1937) e *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Platygasteridae) em ovos de *S. eridania* e *E. heros*, respectivamente, oriundos de soja *Bt* (MON 87701 x MON 89788) e sua isolinha não *Bt*. Para *S. cosmioides* avaliou-se ainda a biologia e o consumo foliar de lagartas nos milhos *Bt* (Herculex e PowerCore) assim como na isolinha não *Bt*. De maneira geral, a soja (*Bt* e não *Bt*) se mostrou favorável ao o desenvolvimento de *S. eridania* e *S. cosmioides*, visto que os aspectos biológicos avaliados foram pouco afetados pelo consumo de soja *Bt*. Apenas para *S. eridania* observou-se a redução de dois dias na fase larval e maior longevidade dos machos adultos quando as lagartas alimentaram-se da soja *Bt*. Já no milho, *S. cosmioides* (a única espécie avaliada nessa cultura) apresentou alta mortalidade, tanto nos híbridos transgênicos como na isolinha não transgênica, o que indica que a espécie não apresenta potencial para se tornar praga nessa cultura. A biologia de *E. heros* não foi alterada pelo consumo de soja *Bt* comparativamente a sua isolinha não *Bt*. Com relação aos parasitoides de ovos, para *T. remus*, o parasitismo foi menor em ovos de *S. eridania* oriundos de mariposas que, em sua fase larval, se alimentaram de soja *Bt*. Diferentemente, nenhuma diferença foi observada na biologia de *T. podisi* parasitando ovos de *E. heros* alimentados com soja *Bt* e não *Bt*. Sendo assim, como os cultivos de plantas *Bt* são eficientes para as pragas-alvo, a possível redução no uso de inseticidas com a adoção dessa tecnologia, assim como efeitos negativos que a tecnologia pode trazer para alguns inimigos naturais, pode indiretamente favorecer o aumento da ocorrência das pragas não-alvo, que devem ser constantemente monitoradas para que medidas adicionais de controle sejam tomadas sempre que necessário.

Palavras-chave: Soja *Bt*, milho *Bt*, pragas não-alvo, parasitoides de ovos.

ABSTRACT

“*Bt*-PLANT OF SOYBEAN AND CORN EFFECTS ON NON-TARGET PESTS AND THEIR NATURAL ENEMIES”

Author: Gabriela Vieira Silva

Adviser: Adeney de Freitas Bueno

The genetic modified plants to insect resistance (*Bt* plants) has been efficiently used in pest management in several crops around the world, however, there is still a lack of information regarding their effects on non-target organisms (pests and natural enemies). In Brazil, *Bt* corn is cropped, which includes the Herculex, that express Cry1F protein and PowerCore, that express Cry1F, Cry1A.105 and, Cry2Ab2. The transgenic soybean that expresses Cry1Ac was authorized and will be commercialized during the next crop seasons. Therefore, this work studied *Bt*-plant impact on the biological characteristics of non-target pests and their natural enemies. *Spodoptera eridania* (Cramer, 1784), *Spodoptera cosmioides* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae), and *Euschistus heros* (Fabricius, 1974) (Hemiptera: Pentatomidae) biological characteristics were evaluated when feeding on *Bt* soybean MON 87701 x MON 89788 and its non-*Bt* isoline. Also, we studied the compared biology of the egg parasitoids *Telenomus remus* (Nixon, 1937) and *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Platygasteridae) on *S. eridania* and *E. heros* eggs, respectively, from *Bt* soybean (MON 87701 x MON 89788) and its non-*Bt* isoline. Additionally for *S. cosmioides*, the biology and foliar consumption of the caterpillar were evaluated on *Bt* corn (Herculex and PowerCore) and its non-*Bt* isoline. In general, *Bt* and non-*Bt* soybeans were good *S. eridania* and *S. cosmioides* hosts, since the evaluated biological characteristics were lightly affected by the *Bt* soybean consumption. It was observed only for *S. eridania* a 2-day reduction for larval stage duration and a higher adult longevity for males when the caterpillars were fed with *Bt* soybean. High larval mortality was recorded for *S. cosmioides* on *Bt* corn (the only pest studied in this crop) as well as on its non-*Bt* isoline. This result indicates that *S. cosmioides* is not harmful to corn and it is not a threat as pest on this crop. *Euschistus heros* biology was also not impacted by its feeding on *Bt* soybean compared to the non-*Bt* isoline. Regarding to the egg parasitoids, the parasitism was impaired for *T. remus* on *S. eridania* eggs from *Bt* soybean. Differently, no differences were observed on *T. podisi* biology parasitizing *E. heros* from *Bt* and non-*Bt* soybeans. Therefore, considering *Bt* crops as efficient tools against the target pests, the possible reduction in insecticide use after the adoption of this technology as well as its side-effects to some natural enemies can favor the increase secondary pests. These secondary pests must be monitored in order to use alternative control measurements whenever necessary.

Key-words: *Bt* Soybean, *Bt* corn, non-target pest, parasitoid eggs.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 A IMPORTÂNCIA DOS CULTIVOS DE SOJA E MILHO.....	3
2.2 PLANTAS <i>Bt</i>	5
2.3 INFLUÊNCIA DAS PLANTAS <i>Bt</i> EM PRAGAS NÃO-ALVO	8
2.4 O COMPLEXO <i>Spodoptera</i>	10
2.4.1 <i>Spodoptera cosmioides</i>	10
2.4.2 <i>Spodoptera eridania</i>	12
2.5 <i>Euschistus heros</i>	13
2.6 INIMIGOS NATURAIS	14
2.6.1 <i>Telenomus remus</i>	15
2.6.2 <i>Telenomus podisi</i>	17
3. OBJETIVOS	18
4. REFERÊNCIAS	19
5. ARTIGO 1: INFLUÊNCIA DA SOJA GENETICAMENTE MODIFICADA (<i>Bt</i>) NO DESENVOLVIMENTO E REPRODUÇÃO DE <i>Spodoptera eridania</i> (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) E DO PARASITOIDE DE OVOS <i>Telenomus remus</i> (HYMENOPTERA: PLATYGASTRIDAE).....	31
Resumo	31
5.1 Introdução	32
5.2 Material e Métodos	33
5.2.1 Criação e manutenção de <i>S. eridania</i> e <i>T. remus</i>	33
5.2.2 Semeadura e manejo cultural da soja	34
5.2.3 Bioensaio 1: Biologia comparada de <i>S. eridania</i> em soja <i>Bt</i> e não <i>Bt</i>	34
5.2.4 Bioensaio 2: Consumo foliar de lagartas <i>S. eridania</i> em soja <i>Bt</i> e não <i>Bt</i>	35

5.2.5 Bioensaio 3: Biologia de <i>T. remus</i> em ovos de <i>S. eridania</i> oriundas de lagartas alimentadas com soja <i>Bt</i> e não <i>Bt</i>	35
5.2.6 Análise Estatística	36
5.3 Resultados	36
5.3.1 Consumo foliar e aspectos biológicos de <i>S. eridania</i> em soja <i>Bt</i> e não <i>Bt</i>	36
5.3.2 Aspectos biológicos de <i>T. remus</i> desenvolvido em ovos de <i>S. eridania</i> criadas em soja <i>Bt</i> e não <i>Bt</i>	36
5.4 Discussão	37
5.5 Agradecimentos	40
5.6 Referências citadas.....	40
6. ARTIGO 2: PROTEÍNAS Cry1F, Cry1A.105 , Cry2Ab2 e Cry1Ac: EFEITOS SOBRE ASPECTOS BIOLÓGICOS DE <i>Spodoptera cosmíoides</i> (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) NO MILHO E SOJA.....	49
Resumo	49
6.1 Introdução	50
6.2 Material e Métodos	51
6.2.1 Condições experimentais e procedência das lagartas.....	51
6.2.2 Preparo e utilização das plantas de milho e soja nos bioensaios.....	51
6.2.3 Bioensaios 1 e 2: Aspectos biológicos de <i>S. cosmíoides</i> de 1º e 3º ínstar em milho <i>Bt</i> e não <i>Bt</i>	52
6.2.4 Bioensaio 3: Aspectos biológicos e consumo foliar de <i>S. cosmíoides</i> de 5º ínstar em milho <i>Bt</i> e não <i>Bt</i>	53
6.2.5 Bioensaio 4: Parâmetros biológicos e consumo foliar de <i>S. cosmíoides</i> em soja <i>Bt</i> e não <i>Bt</i>	53
6.2.7 Análise estatística.....	54
6.3 Resultados	55
6.4 Discussão	55
6.5 Conclusão.....	58
6.6 Agradecimentos	58

6.7 Referências bibliográficas.....	58
7. ARTIGO 3: EFEITO DA SOJA <i>Bt</i> SOBRE <i>Euschistus heros</i> E SEU PARASITOIDE DE OVOS <i>Telenomus podisi</i>	66
Resumo	66
7.1 Introdução	67
7.2 Material e Métodos	68
7.2.1 Condições experimentais e procedência dos percevejos e parasitoides de ovos.....	68
7.2.2 Preparo e utilização das plantas nos bioensaios	68
7.2.3 Bioensaio 1: Aspectos biológicos de <i>E. heros</i> alimentados com soja <i>Bt</i> e soja não <i>Bt</i>	69
7.2.4 Bioensaio 2: Aspectos biológicos de <i>T. podisi</i> em ovos de <i>E. heros</i> alimentados com soja <i>Bt</i> e não <i>Bt</i>	70
7.2.5 Análise estatística.....	71
7.3 Resultados	71
7.4 Discussão	71
7.5 Agradecimentos	75
7.6 Referências.....	76
CONSIDERAÇÕES FINAIS	83

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Lagarta de <i>Spodoptera cosmioides</i> (A); Mariposa fêmea (B) e macho (C) de <i>S. cosmioides</i>	12
FIGURA 2: Lagarta de <i>Spodoptera eridania</i> (A); Mariposa fêmea (B) e macho (C) de <i>S. eridania</i>	13
FIGURA 3: Ovos de <i>Euschistus heros</i> (A); (B) ninfas de 1º ínstar e (C) adulto..	14
FIGURA 4: Fêmea de <i>Telenomus remus</i> parasitando ovos de <i>Spodoptera frugiperda</i>	15
FIGURA 5: Fêmea de <i>Telenomus podisi</i> parasitando ovos de <i>Euschistus heros</i>	17

1. INTRODUÇÃO GERAL

O agronegócio brasileiro apresenta ampla contribuição para o país, representando em torno de um terço do total do PIB nacional e é considerado um dos setores mais importantes da economia brasileira (Ramos et al. 2007). Dentre as principais culturas destacam-se a soja [*Glycine max* (L.) Merrill] e o milho (*Zea mays* L.), amplamente cultivadas em grande parte do território nacional (Conab 2012a).

A soja, leguminosa nativa da Ásia, foi introduzida no Brasil no século 20 e, desde então, seu cultivo vem se expandindo em todo território nacional. Sua maior utilização é destinada à alimentação humana e animal, extração de óleo vegetal, entre outras (Missão 2006). O milho, cereal da família Poaceae, foi introduzido no Brasil a partir do México e 70% de sua utilização é destinada a alimentação animal (Embrapa 2008).

Mesmo sendo amplamente cultivadas, várias são as limitações para o manejo de ambas as culturas, entre elas, a ocorrência de pragas merece destaque. Dentre as pragas de maior incidência estão os percevejos pentatomídeos, principalmente a espécie *Euschistus heros* (Fabricius, 1974) (Hemiptera: Pentatomidae) que ocorre, predominantemente, na cultura da soja causando grandes danos (Nunes e Corrêa-Ferreira 2002) e que também vem ocorrendo nos cultivos de milho de inverno e as lagartas do complexo *Spodoptera*, especialmente *Spodoptera cosmioides* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Spodoptera eridania* (Cramer, 1782) (Lepidoptera: Noctuidae) que ocorrem na cultura da soja (Santos 2001) e *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do milho (Sarmiento et al. 2002). Tradicionalmente, o controle dessas pragas é realizado através do uso de inseticidas químicos que, muitas vezes utilizado de forma errônea, pode trazer efeitos negativos em relação à saúde humana, além da eliminação de agentes de controle biológico e aumento do custo de produção (Loguercio et al. 2002).

Assim, como mais uma ferramenta para o controle de pragas dentro do conceito de manejo integrado de pragas (MIP), as plantas modificadas geneticamente para resistência a insetos tem se mostrado eficientes em diversas culturas (Yu et al. 2011). Essas plantas contam com a expressão de proteínas Cry, que são sintetizadas a partir da inserção de um gene da bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner (*Bt*), que matam o inseto através de ligações específicas no seu intestino médio e consequente septicemia (Jenkins et al. 1999).

A soja *Bt*, MON 87701 x MON 89788, que expressa a proteína Cry1Ac, produzida pela empresa Monsanto Ltda já está liberada em diversos países no mundo e seu cultivo comercial deverá ocorrer na safra 2013/2014. Este evento (MON87701 x MON89788) apresenta como pragas-alvo primária principalmente a lagarta-da-soja *Anticarsia gemmatilis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Erebidæ) e a lagarta falsa-medideira *Chrysodeixis includens* (Walker, [1857]) (Lepidoptera: Noctuidæ), sendo que sua eficiência já foi relatada para ambas as espécies (Bernardi et al. 2012). Além destas pragas, as espécies *Heliothis virescens* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidæ) e *Crosidosema aporema* (Walsingham, 1914) (Lepidoptera: Tortricidæ) também são alvos desta tecnologia. O híbrido de milho *Bt*, da empresa Dow Agrosiences, Herculex 2B688 (Cry1F) apresenta como pragas-alvo primárias a *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidæ), a *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) e *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidæ) (Martinelli e Omoto 2005). Já o híbrido *Bt* PowerCore 2B688 (Cry1F + Cry1A.105 + Cry2Ab2), também da empresa Dow Agrosience em parceria com a Monsanto Ltda, apresenta como pragas-alvo, além daquelas citadas para o milho Herculex, as espécies *Elasmopalpus lignosellus* (Zeller, 1848) (Lepidoptera: Pyralidae) e *Agrotis ipsilon* (Hufnagel, 1767) (Lepidoptera: Noctuidæ).

Tanto as espécies de lepidópteros *S. cosmíoides* e *S. eridania*, quanto o hemíptero *E. heros*, não são pragas-alvo, atualmente, das plantas *Bt*, porém serão expostas as proteínas Cry com a adoção dessa tecnologia. Além das pragas não-alvo, inimigos naturais, como por exemplo os parasitoides de ovos *Telenomus remus* (Nixon, 1937) (Hymenoptera: Platygastriidae) e *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Platygastriidae), também serão expostos a essas proteínas, podendo ser afetados direta ou indiretamente. Assim, é de extrema importância conhecer a influência das proteínas de *Bt* sobre os aspectos biológicos desses organismos não-alvo.

Além disso, com a adoção do cultivo de plantas *Bt*, há uma tendência de diminuição do uso de inseticidas (Cattaneo et al. 2006). Assim, espécies de pragas não-alvo podem se tornar mais importantes por terem sua mortalidade reduzida em decorrência da menor utilização de inseticidas aplicados para as pragas-alvo, controladas pela tecnologia *Bt*. Por outro lado, este cenário pode apresentar efeitos benéficos sobre inimigos naturais (Dutton et al. 2002), podendo favorecer sua ocorrência e, conseqüentemente, o controle natural das pragas não-alvo pode ser mais

eficiente. Também é possível que as proteínas de *Bt* influenciem os inimigos naturais diretamente, através de sua alimentação (por exemplo pólen de plantas *Bt*), ou indiretamente pelo consumo de presas ou hospedeiros que se alimentaram dessas plantas que expressam as proteínas Cry, interferindo assim em sua biologia e/ou ocorrência natural.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A IMPORTÂNCIA DOS CULTIVOS DE SOJA E MILHO

A soja é uma leguminosa da família Fabaceae. Originalmente subtropical, com o melhoramento genético, pode ser cultivada em diversos locais (Cavalett 2008), sendo atualmente a oleaginosa mais produzida e consumida no mundo (de Sousa 2012).

Entre os anos de 1920 e 1930, agricultores norte-americanos iniciaram o cultivo da soja em larga escala nos E.U.A, que era usada principalmente como um insumo para ração animal (Hin 2002). No Brasil, o grão foi introduzido no estado do Rio Grande do Sul por volta de 1960 e, até meados de 1970, cerca de 80% da produção nacional concentrava-se na região Sul (Cavalett 2008). De maneira geral, nos últimos 50 anos, a soja apresentou melhorias em seu sistema de cultivo, o que levou a um aumento no interesse dos produtores por essa cultura (Bridi 2012) e o seu avanço por todo Cerrado até a região Norte do país (Schnepf et al. 2001).

Dentre os grandes países produtores, o Brasil possui o maior potencial de expansão da área cultivada, podendo mais do que duplicar sua produção e, em curto prazo, assumir a posição de maior produtor e exportador mundial desta oleaginosa e seus derivados (Dall'Agnol 2008). Segundo a Conab (2012a), o Brasil é o segundo maior produtor mundial de soja, com previsões de que nesta safra (2012/2013) passe a ser o primeiro colocado, com uma área plantada de aproximadamente 27 milhões de hectares, um crescimento de 8,8% em relação à safra 2011/2012, atingindo uma produção de aproximadamente 82,6 mil toneladas. O Centro-Sul do Brasil apresenta a maior área cultivada, em torno de 24 milhões hectares seguidos por Norte-Nordeste, com 3,1 milhões hectares (Conab 2012a).

Outra cultura de grande importância mundial é o milho, *Zea mays* L., um cereal pertencente à família Poaceae, cultivado em grande parte do mundo. Os primeiros

registros do cultivo de milho datam de cerca de 7.000 anos e foram feitos em pequenas ilhas próximas ao litoral mexicano, apresentando uma rápida ascensão (Embrapa 2008).

O Brasil está entre os maiores produtores mundiais de milho, alcançando uma safra recorde de 72,77 milhões de toneladas na safra 2011/12 (Conab 2012b) sendo que o principal destino da produção são as indústrias de rações para animais. Em diferentes sistemas produtivos, o milho é cultivado principalmente nas regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sul do Brasil e o grão, além de ser usado na ração animal, pode também ser transformado em óleo, farinha, amido, margarina, xarope de glicose e flocos para cereais matinais (Mapa 2012).

Os cultivos de verão ou primeira safra são realizados na época tradicional, durante o período chuvoso, enquanto que o cultivo de inverno ou segunda safra refere-se ao milho plantado quase sempre depois da soja precoce (Vicente e Júnior 2011). Tem se verificado no Brasil, nas últimas safras, um decréscimo na área semeada de milho no período da primeira safra, mas que tem sido compensado pelo aumento das semeaduras de inverno e pelo aumento do rendimento agrícola das lavouras (Vicente e Júnior 2011). Embora realizados em uma condição desfavorável de clima, os sistemas de produção de inverno tem sido aprimorados, o que contribui para elevar os rendimentos das lavouras também nessa época (Embrapa 2008).

Devido sua importância econômica, as culturas da soja e milho demandam técnicas de manejo fitossanitário adequadas para reduzir as perdas econômicas (Mundstock e Silva 2005, Hoeft 2003). Dentre as principais limitações desses cultivos, encontra-se a ocorrência de pragas, destacando-se os lepidópteros do complexo *Spodoptera* e os percevejos pentatomídeos, que causam danos tanto na cultura da soja como na do milho (Gomez e Ávila 2001, Manfredi-Coimbra et al. 2005, Bridi 2012).

Tradicionalmente, o controle dessas pragas é realizado por meio de excessivas aplicações de inseticidas (Cortez e Trujillo 1994). Porém, esta ação ocasiona aumento no custo de produção, eliminação de agentes naturais de controle, favorece a seleção de linhagens da praga resistentes aos inseticidas, além de trazer consequências indesejáveis em termos de toxicidade ao homem, aos animais e ao meio ambiente (Loguercio et al. 2002). Em função desses problemas, outras estratégias vem sendo desenvolvidas e utilizadas nessas culturas como, por exemplo, as plantas geneticamente modificadas para resistência a insetos (plantas *Bt*).

Dentro do contexto de MIP, o desenvolvimento dessas plantas modificadas com resistência a insetos tem apresentado grande efetividade em diversas culturas (Yu et al. 2011). Em 2009, mais de 14 milhões de produtores agrícolas em 25 diferentes países já cultivam plantas resistentes a insetos (plantas *Bt*), ocupando uma área de aproximadamente 134 milhões de hectares (James 2010) que vem aumentando a cada ano. Com a difusão e consolidação dessa tecnologia, tem sido observados também muitos benefícios sociais, ambientais e econômicos em decorrência da redução no uso de inseticidas, beneficiando o ambiente e a saúde humana, além de proporcionar maior receita ao produtor (Wang et al. 2007, Tabashnik et al. 2009, Kouser e Qaim 2011). No Brasil já são cultivados milho e algodão (*Gossypum hirsutum* L.) *Bt*, e a CTNBio aprovou em 2010 a comercialização da soja geneticamente modificada, resistente a insetos e tolerante a herbicida, que, provavelmente, estará sendo disponibilizada ao sojicultor na safra 2013/2014.

2.2 PLANTAS *Bt*

Atualmente são conhecidas inúmeras espécies de bactérias associadas a doenças em insetos (Costa et al. 2010), mas nem todas apresentam as características desejáveis à aplicação do controle biológico de insetos-praga das plantas cultivadas (Fiuza 2001). Entre essas bactérias capazes de exercer controle sobre insetos, o gênero *Bacillus* apresenta especial importância no controle biológico de pragas, destacando-se o *Bacillus sphaericus* e o *Bacillus thuringiensis* (Priest 1992, Crickmore et al. 2008).

A espécie *B. thuringiensis*, muito conhecida pela sua forma abreviada *Bt*, é de ocorrência cosmopolita, sendo encontrada no solo em diversos ecossistemas do planeta. No início, o *Bt* era usado como bioinseticida na forma de pulverização, sendo que as primeiras tentativas de sua utilização no controle de pragas foram feitas na Europa na década de 1930 (Polanczyk et al. 2003). Em 1970 foi lançado no mercado brasileiro o Dipel (*Bt kurstaki*) que se mostrou até 200 vezes mais potente que outros isolados dessa bactéria (Lambert e Peferoen 1992, Beegle e Yamamoto 1992).

As proteínas inseticidas de *Bt* matam os insetos por um processo que inclui as etapas de processamento de solubilização do cristal, transformação para a forma ativa da protoxina, a ligação de alta afinidade com os receptores do intestino médio, a inserção, irreversível, da toxina na membrana (Jenkins et al. 1999, Whalon e Wingerd 2003) e formação de poros. Estes poros causam a perda da regulação osmótica e lise da

célula ocasionando a morte do inseto. Além disso, a morte do inseto também pode ocorrer em função de uma segunda causa associada à primeira, que é a multiplicação bacteriana na hemolinfa, determinando um processo septicêmico (Gill et al. 1992).

Devido à complexidade do processo de transformação de plantas transgênicas, somente em 1987 foram obtidas as primeiras plantas *Bt*, mediante a inserção de genes *cry* que codificam a síntese de proteínas inseticidas em plantas de tomate (proteína Cry1Ab) e tabaco (proteína Cry1Ac) (Fischhoff et al. 1987 e Polanczyk et al. 2003). Desde então, vários genes *cry* foram introduzidos em diversas plantas como algodão, arroz, milho, batata, canola e soja (Jouanin et al. 1998, Parrott et al. 1994, Macrae et al. 2005, Homrich et al. 2008).

O milho Herculex, é a transformação de uma variedade convencional, através de biobalística, para expressar a proteína Cry1F, eficiente contra pragas da ordem lepidóptera. No Brasil um estudo em campo realizado na safra 2005/2006 para avaliar a eficácia dos híbridos derivados do evento transgênico contendo a gene *cry1F* no manejo de *S. frugiperda* em Itumbiara (GO), Toledo (PR) e Indianópolis (SP) resultou em um controle melhor do que o conseguido pelo controle com inseticidas químicos (Viana et al. 2006). Estes autores observaram diferenças significativas de manejo para a densidade dos insetos-praga *S. frugiperda*, *D. saccharalis*, *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae) e adultos de *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae) e concluíram que o milho *Bt* (Cry1F) proporciona um maior controle sobre lepidópteros-praga, em comparação com o milho não *Bt*. Os resultados desse estudo também indicaram que não houve impacto significativo do milho *Bt* em espécies não-alvo coletadas.

O milho *Bt*, que expressa além da proteína Cry1F, as proteínas Cry1A.105 (proteína sintética de Cry1Ab) e Cry2Ab2, também confere resistência ao ataque de vários de lepidópteros (Peixoto 1999), o que reduz significativamente os danos causados por essas espécies em lavouras (Chilcutt et al. 2007). A densidade populacional de *S. frugiperda* é menor ao longo do ciclo vegetativo da cultura, do que em relação ao milho não *Bt*, demonstrando a expressão contínua da toxina Cry1Ab e sua efetividade sobre esse inseto-praga e destacando seu potencial de proteção da cultura. (Fernandes 2003). Em testes conduzidos em laboratório, apesar de uma porcentagem significativa de lagartas de *S. frugiperda* terem atingido a fase de pupa quando

alimentadas com milho *Bt* (Cry1Ab), a sobrevivência foi significativamente menor em relação ao milho não *Bt* (Bokonon-Ganta et al. 2003).

Outros estudos em laboratório demonstram que *D. saccharalis* foi menos suscetível a cultivares de milho *Bt*, expressando a toxina Cry1Ab do que *Ostrinia nubilalis* (Hubner) (Lepidoptera: Pyralidae) e *Diatraea grandiosella* (Dyar, 1911) (Lepidoptera: Crambidae) (Huang et al. 2006). Estudos bioquímicos comparativos indicaram que as proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2, mesmo apresentando as mesmas pragas-alvo, tem diferenças importantes no seu modo de ação, especificamente no modo de como se ligam a receptores do intestino médio dos insetos lepidópteros. Assim, probabilidade de resistência cruzadas entre essas duas proteínas é baixa (Abdelhay, 2009).

Em relação à soja, a partir de 1990, tem sido buscadas alternativas para o controle de lagartas desfolhadoras, através do avanço da biotecnologia (Bernardi 2012). O primeiro relato de expressão bem sucedida de um gene *cry* de *Bt* em soja, o *cry1Ab*, foi em 1994 (Parrott et al. 1994). Posteriormente, foram desenvolvidas linhagens experimentais de soja que expressam o gene *cry1Ac* de *Bt* (Stewart et al. 1996; Homrich et al. 2008) e linhagens que expressam o gene sintético *cry1Ac* (*tic107*) de *Bt* (Macrae et al. 2005, Mcpherson e Macrae 2009), que constituiu o evento MON 87701 (Fischhoff e Perlak 1995). Estas linhagens foram cruzadas com linhagens que continham o evento MON 89788 para obter o evento de soja estaqueado MON 87701 × MON 89788 que expressa a proteína inseticida 51 Cry1Ac de *Bt*. Esta nova variedade de soja, usualmente denominada de soja Bt/RR₂ ou ainda com nome comercial de INTACTA RR₂ PRO[®] terá ação contra alguns lepidópteros, como a lagarta-da-soja *Anticarsia gemmatilis* (Hübner, 1818) (Lepidoptera: Erebiidae) e a lagarta falsa-medideira *Chrysodeixis* (= *Pseudoplusia*) *inclusens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae), além do controle da lagarta-da-maçã *Heliothis virescens* (Fabricius, 1781) (Lepidoptera: Noctuidae) e da broca-das-axilas *Crociosema aporema* (Walsingham, 1914) (Lepidoptera: Tortricidae), além de sua tolerância aos herbicidas a base de glifosato.

Apesar das vantagens da utilização de plantas geneticamente modificadas resistentes a insetos, ainda existem preocupações sobre os efeitos desconhecidos associados a essa tecnologia (Nunes 2010, Kouser e Qaim 2011). O uso em larga escala pode representar um risco para a biodiversidade pelos possíveis efeitos sobre

organismos não-alvo, o que torna ainda mais importante estudos que avaliem tal interação.

2.3 INFLUÊNCIA DAS PLANTAS *Bt* EM PRAGAS NÃO-ALVO

O efeito de plantas geneticamente modificadas (GM) sobre organismos não-alvo é amplamente discutido entre a comunidade científica, tanto no que diz respeito à artropodofauna, quanto a mamíferos, incluindo os seres humanos. O protocolo de Cartagena sobre Biossegurança de Organismos Modificados, a Convenção de Biodiversidade, entre outros fóruns internacionais indicam a necessidade de avaliações dos possíveis impactos destes organismos modificados (Capalbo et al. 2003). As avaliações de riscos ambientais devem ser feitas caso a caso e devem considerar a modificação genética que a planta apresenta, avaliando os possíveis efeitos na biodiversidade e no ambiente em que a variedade foi ou será liberada (Kuiper et al. 2001).

Os organismos não-alvo são definidos como espécies que podem estar expostas a proteínas *Bt* por um longo tempo, mas que não são alvos diretos das culturas *Bt* (Andow e Hilbeck 2004). Estes organismos podem estar expostos às toxinas de plantas GM de forma direta ou indireta. A primeira (bitrófica) é quando estes insetos entram em contato direto com a proteína *Bt* através do consumo da planta ou de produtos das plantas, como néctar e pólen (Nunes 2010). A segunda, indireta (tritrófica), é aquela na qual os artrópodes podem adquirir a proteína *Bt* através da alimentação de herbívoros ou pelo consumo do “honeydew” de insetos que se alimentaram da planta transgênica (Groot e Dicke 2002, Faria et al. 2006).

Em relação aos insetos não-alvo, alguns estudos tem sido feitos relatando a influência ou não de plantas GM sobre esses organismos. Thomazoni (2008) verificou que, no algodão *Bt* (NuOpal®) em Dourados - MS, a espécie não-alvo *Anthonomus grandis* (Boheman, 1843) (Coleoptera: Curculionidae), esteve mais abundante do que no algodão não *Bt*, indicando que a proteína expressa Cry1Ac não apresenta efeito inseticida sobre este inseto, assim como sobre os inimigos naturais *Cycloneda sanguinea* (L) (Coleoptera: Coccinellidae), *Scymnus* sp. (Coleoptera: Coccinellidae) e *Geocoris* sp (Hemiptera: Geocoridae), encontrados igualmente tanto em algodão *Bt* quanto em algodão não *Bt*. Kim et al. (2008) também não observaram efeito negativo do repolho desenvolvido na China, que expressa a proteína Cry1Ac, sobre o herbívoro não-

alvo *Mamestra brassicae* (L) (Lepidoptera: Noctuidae) e seu parasitoide *Microplitis mediator* (Haliday) (Hymenoptera: Braconidae).

Por outro lado, o milho *Bt* que expressa a toxina Cry1Ab, exibe um efeito negativo na espécie não-alvo *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) e no seu parasitoide larval *Cotesia marginiventris* (Cresson) (Hymenoptera: Braconidae) (Vojtech et al. 2005). Efeito negativo também foi observado sobre o inimigo natural *Pirata subpiraticus* (Araneae: Lycosidae) na cultura do arroz transgênico, expressando a proteína Cry1Ab (Chen et al. 2009). Estudos mostram também que a sobrevivência de abelhas alimentadas com pólen de algodão *Bt* foi afetada (Liu et al. 2000).

As proteínas Cry das plantas GM podem ser concentradas no organismo dos artrópodes após serem ingeridos, como é o caso de ácaros fitófagos (Nunes 2010). Trabalhos realizados com milho *Bt* (N4640*Bt*) mostraram que, comparado a outros herbívoros mastigadores e sugadores alimentados desta variedade, *Tetranychus urticae* (Koch 1836) (Acari: Tetranychidae) apresentou maior quantidade da proteína Cry1Ab (Dutton et al. 2002), que pode permanecer biologicamente ativa dentro do ácaro (Obriet et al. 2006). Na espécie de afídeo não-alvo, *Myzus persicae* (Sulzer 1778) (Hemiptera: Aphididae), foram detectados 74% de proteína expressa em colza (Burgiu et al. 2007). Portanto, pelo fato dos afídeos serem presa para uma grande quantidade de inimigos naturais, estes podem transferir toxinas a níveis tróficos mais elevados se a toxina *Bt* estiver acumulada em seu corpo (Desneux et al. 2007).

As proteínas de *Bt* podem também afetar organismos edáficos, como mostra o estudo feito em laboratório por Bakonyi et al. (2006), que estudaram o efeito do milho transgênico DK-440 BTY “YieldGard” (evento MON810) na preferência e no consumo alimentar de espécies de Collembola (*Folsomia candida*, *Heteromurus nitidus* e *Sinella coeca*). Os autores mostraram que o milho *Bt* foi menos preferido pelas três espécies avaliadas.

Além das proteínas inseticidas expressas por genes *cry*, existem as proteínas VIP (Proteínas Inseticidas Vegetativas), que também são produzidas através de cepas de *Bt* em sua fase vegetativa (Bernardi 2012). Estas proteínas atuam de modo semelhante àquele utilizado pelas proteínas Cry, porém suas propriedades de ligação aos sítios no intestino médio dos insetos são diferentes, o que reduz as possibilidades de resistência cruzada entre proteínas Cry e VIP (Jackson et al. 2007). As subfamílias Vip1 e Vip2

apresentam atividade inseticida contra *Diabrotica virgifera* e *Diabrotica longicornis* (Coleoptera: Chrysomelidae) (Han et al. 1999; Warren 1997) e a proteína Vip3, contra lepidópteros. Em relação a organismos não-alvo, já foi constatado que as proteínas VIP não apresentam efeito negativo (Whitehouse et al. 2007). Assim, concluí-se que essas proteínas, em conjunto com as proteínas Cry são promissoras para o controle de determinadas pragas, podendo ser usadas em conjunto ou em rotação para um efetivo manejo de resistência (Jackson et al. 2007).

2.4 O COMPLEXO *Spodoptera*

O gênero *Spodoptera* Guenée é composto por 30 espécies de distribuição cosmopolita, encontradas com maior frequência em locais de clima mais quente. Esse gênero apresenta distribuição principalmente tropical e subtropical, mas algumas espécies que ocorrem nos dois hemisférios, aparecem também em regiões temperadas (Pomari 2011). *Spodoptera* é representado na região neotropical por 16 espécies (Todd e Poole 1980), das quais 15 são consideradas pragas agrícolas, por apresentarem alto grau de polifagia, e alimentarem-se de importantes cultivos, como soja (Abdullah et al. 2000), milho (Pitre e Hogg 1983) e algodoeiro (Habib et al. 1983) e até plantas utilizadas para reflorestamento como a bracatinga (Mattana e Foerster 1988) além de pastagens (Pogue 2002), hortaliças (Silva et al. 1968) e eucalipto (Santos et al. 1980), por exemplo.

2.4.1 *Spodoptera cosmioides*

Spodoptera cosmioides (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae), era considerada sinonímia de *Spodoptera latifascia*, descrita por Walker em 1856 na Jamaica. Porém, em 1997, estudos que descreveram aspectos moleculares, morfológicos, fisiológicos e comportamentais, através da genitália, feromônios e DNA mitocondrial, revalidaram sua identidade específica. A distribuição desta espécie restringe-se à América do Sul, com exceções do sul da Argentina, Chile e de regiões do Peru situadas a oeste dos Andes, diferentemente de *S. latifascia*, que é encontrada na América Central e América do Norte (Antilhas) (Silvain e Lalanne-Cassou 1997).

Os ovos desta espécie possuem coloração escura e são colocados em camadas sobrepostas de aproximadamente 100 ovos (Santos 2007). As lagartas recém eclodidas

possuem o corpo com coloração marrom-claro e a cabeça preta. Nos primeiros estádios de crescimento, apresentam tonalidade pardo-negro-acinzentada, com 3 listras longitudinais alaranjadas, uma dorsal e duas laterais, com pontos brancos. Acima dos pontos brancos estão presentes triângulos pretos direcionados para o dorso do inseto. Lagartas mais desenvolvidas são pardas e apresentam uma faixa mais escura entre o 3º par de pernas torácicas e o 1º par de falsas-pernas abdominais além de dois pontos negros na extremidade final do abdome (Levy e Habeck 1976, Santos et al. 2003, Zenker et al. 2007) (Figura 2A). Normalmente apresentam de seis a sete ínstaes larvais, mas em soja já foi observada a ocorrência de oito ínstaes (Bavaresco et al. 2003). As mariposas são pequenas, medindo aproximadamente 40 mm de envergadura. As fêmeas possuem coloração parda com desenhos brancos nas asas anteriores e asas posteriores brancas (Figura 2B) e são capazes de ovipositar até 500 ovos por dia em condições favoráveis (Bavaresco et al. 2004). Os machos apresentam as asas anteriores amareladas com desenhos escuros, caráter que permite a diferenciação sexual da espécie (Figura 2C) (Santos et al. 2003). Os hábitos de cópula da espécie são noturnos (Sarto et al. 2011) e o ciclo de vida é em torno de 40 a 46 dias, variando de acordo com os fatores bióticos e abióticos (Bavaresco et al. 2003).

As lagartas de *S. cosmioides* são consideradas pragas extremamente polífagas, alimentando-se de grande número de plantas de interesse econômico como por exemplo amendoim, algodão, milho, soja, sorgo, tomate e trigo, entre outras (Bavaresco et al. 2004, Pastrana 2004, Specht et al. 2004). Porém, mesmo com uma grande variedade de hospedeiros sua ocorrência como praga, há muito tempo, é relatada em algumas culturas em condições geralmente relacionadas a desequilíbrios provocados pelo uso excessivo de inseticidas de amplo espectro (Habib et al. 1983). Exemplo disso ocorre nos estados de São Paulo, Paraná e Santa Catarina, onde surtos da praga causaram severos danos em culturas de interesse econômico, entre elas o algodoeiro e a soja (Bavaresco et al. 2004). Em soja, além de ocasionar desfolha, a partir do início da fase reprodutiva, torna-se uma das principais pragas que atacam as vagens (Bernardi 2012).

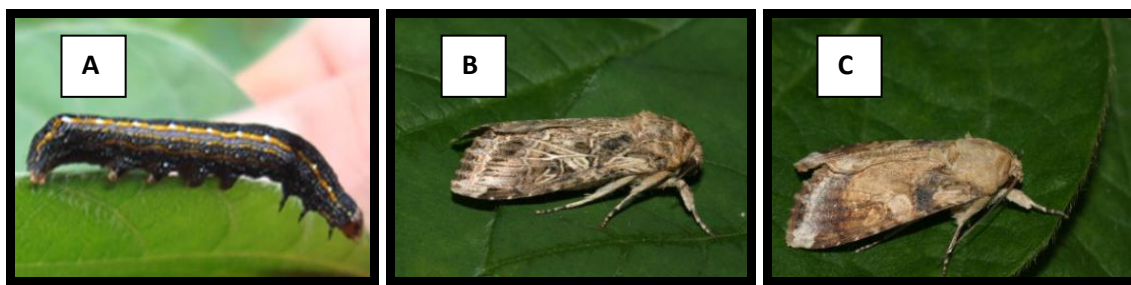


Figura 2: (A) Lagarta (Foto: Adeney F. Bueno); mariposa fêmea (B) e macho (C) de *Spodoptera cosmioides* (Fotos: Jovenil J.da Silva).

2.4.2 *Spodoptera eridania*

Spodoptera eridania (Cramer, 1784) (Lepidoptera: Noctuidae) é nativa dos trópicos americanos, sendo encontrada na América Central e do Sul (Capinera 2005). No Brasil é citada atacando soja, algodão, milho, amendoim, alface, tomate, couve, mamona, pimentão e abóboreira, entre outras culturas de importância econômica (Silva et al. 1968, Soo Hoo e Fraenkel 1966, Scriber 1981). Além disso, Nora et al. (1989) constataram a presença de *S. eridania* e *S. latifacia* em pomares de maçã em Fraiburgo, SC, com posturas nas folhas e frutos; onde as lagartas de 1º e 2º ínstaes alimentam das folhas, e no 6º ínstar atacaram os frutos.

Na cultura da soja sua importância é crescente, atacando as vagens e podendo causar desfolha (Sosa-Gómez et al. 2010). Nas regiões de cultivo do Cerrado, *S. eridania* tem sido encontrada em áreas cultivadas com algodão, vizinhas de lavouras de soja, de onde migram em final de ciclo para plantas invasoras como a corda-de-viola (*Ipomoea grandifolia*), onde causam alto índice de desfolha (Santos et al. 2005). A corda-de-viola é uma das plantas invasoras de larga ocorrência nas regiões do Cerrado, onde permanecem na área por um período maior do que as plantas cultivadas. Assim, acredita-se que a disponibilidade de hospedeiros pode favorecer o desenvolvimento dessa espécie (Santos et al. 2005).

Spodoptera eridania possui alto potencial reprodutivo com capacidade de ovipositar de 600 a 900 ovos. Em laboratório, apresenta de 6 a 7 ínstaes larvais quando alimentadas com folhas de soja e algodão, respectivamente (Santos et al. 2005), podendo variar de acordo com fatores bióticos e abióticos. Nos primeiros estádios de desenvolvimento, as lagartas apresentam quatro pontos escuros sobre o dorso na parte mediana do corpo. A partir do 3º ínstar, apresentam três listras longitudinais amareladas, duas laterais e uma dorsal (Figura 3.A). Ao fim do ciclo larval, as lagartas

migram para o solo onde se transformam em pupa. Os adultos de *S. eridania* possuem entre as nervuras radial e mediana um ponto ou uma tarja preta longitudinal ao corpo do inseto em cada asa anterior (Figuras 3B e 3C) (Gallo et al. 2002, Levy e Habeck 1976, Santos et al. 2003, Zenker et al. 2007). Assim como *S. cosmioides*, *S. eridania* possui hábito noturno de cópula (Vidotto et al. 2012) e seu período ovo-adulto varia em torno de 28 a 35 dias (Santos et al. 2005).

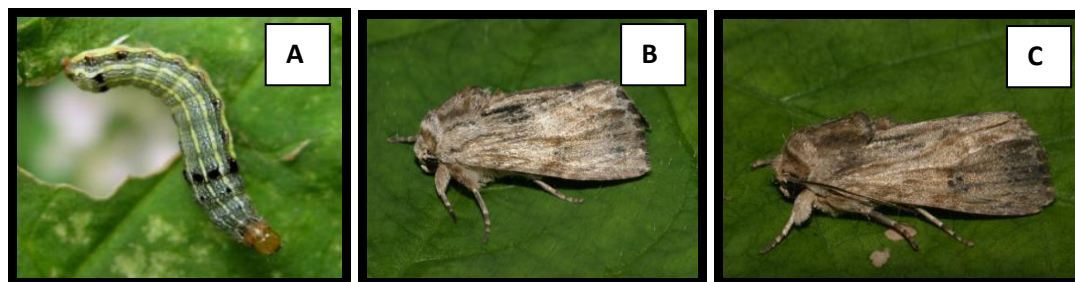


Figura 3. Lagarta (Foto: Adeney F. Bueno) (A); mariposa fêmea (B) e macho (C) de *Spodoptera eridania* (Fotos: Jovenil J. da Silva)

2.5 *Euschistus heros*

Na família Pentatomidae estão contidas as principais espécies de percevejos fitófagos que atacam as culturas agrícolas (Bridi 2012). Esse grupo de percevejos é conhecido popularmente como fede-fede ou percevejo fedorento, sendo a quarta família mais numerosa entre os heterópteros e amplamente distribuída em todo o mundo. Dentro dessa família há 760 gêneros e 4.100 espécies catalogadas, incluindo os percevejos *Dichelops* spp., *Euschistus heros* (Fabr., 1974) e *Piezodorus guildinii* (Westwood, 1837), entre outros (Grazia et al. 1999).

O percevejo-marrom, *E. heros*, espécie rara nos anos 70, é hoje o mais abundante no território brasileiro atacando a cultura da soja (Cividanes e Parra 1994, Degrande e Vivan 2005, Corrêa-Ferreira et al. 2010). Dentre as espécies de percevejos da soja, *E. heros* é mais freqüente em regiões mais quentes, ou seja, desde o norte do Paraná até a região centro-oeste do Brasil (Panizzi e Slansky Jr 1985, Cividanes e Parra 1994).

Essa espécie oviposita seus ovos em grupos sobre as vagens ou folhas, em uma média de 5 a 8 unidades, sendo que a eclosão ocorre após 3 a 7 dias (Figura 4A). As ninfas de primeiros instares possuem hábitos gregários, ou seja, permanecem sobre o córion e geralmente não se alimentam durante o primeiro ínstar, possuem coloração

marrom escura e medem cerca de 2 mm de comprimento (Figura 4B) (Villas Bôas e Panizzi 1980). Esse comportamento gregário pode ser explicado como uma proteção contra a dessecação. Para *Nezara viridula* (Linnaeus, 1758) (Hemiptera: Pentatomidae), a agregação ninfal diminui o tempo de desenvolvimento e a mortalidade (Lockwood e Story 1986). *Euschistus heros* possui 5 ínstaes ninfais antes de atingir a fase de adulto, na qual apresenta uma coloração marrom escura e dois prolongamentos laterais do pronoto, o que facilita sua identificação (Figura 4B) (Gazzoni e Yorinori 1995). O desenvolvimento de ovo a adulto da espécie demora de 34 a 36 dias até atingirem a fase de adulto (Figura 4C) na qual podem permanecer por inúmeros dias (Villas Bôas e Panizzi 1980, Degrande e Vivan 2009). Estudos da biologia de *E. heros* alimentados com vagens de soja mostraram que fêmeas de *E. heros* tiveram um período de pré-oviposição de 13,4 dias e fecundidade de 287,2 ovos/fêmea. As posturas tinham em média 7 ovos e a viabilidade foi de 93% (Villas Bôas e Panizzi 1980).

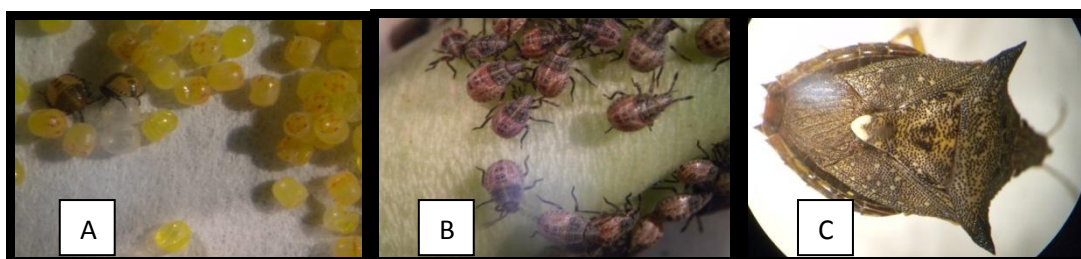


Figura 4. Ovos (A); ninfas de primeiro ínstar (B) e adulto (C) de *Euschistus heros* (Fotos: Gabriela V. Silva)

Esses pentatomídeos encontram-se nas lavouras de soja a já na fase vegetativa e são prejudiciais a partir do início da formação das vagens até a maturação dos grãos (Nunes e Corrêa-Ferreira 2002). Os percevejos atingem as sementes através da introdução do aparelho bucal nas vagens, tornando-os chochos e enrugados, afetando, conseqüentemente, a produção e a qualidade dos grãos (Galileo e Heinrichs 1978). Visando a diminuição de danos, uma das estratégias para a redução populacional dessa praga é através do controle biológico com parasitoides.

2.6 INIMIGOS NATURAIS

O controle biológico aplicado consiste na supressão de pragas agrícolas através de liberações de seus inimigos naturais (Parra 2006). É um manejo biológico com boa aceitação por alguns agricultores e permite a preservação de inimigos naturais já existentes na área.

Dentre os inimigos naturais destacam-se os parasitoides, insetos que têm pelo menos uma fase de seu desenvolvimento associada ao hospedeiro, do qual se alimenta e completa seu ciclo de vida. São estimadas aproximadamente 200 mil espécies de parasitoides, que ocupam principalmente as ordens Hymenoptera e Diptera. Dentre eles, destacam-se os parasitoides de ovos por apresentarem a característica de eliminar a praga em seu primeiro estágio de desenvolvimento, antes mesmo de causarem qualquer injúria às plantas.. Outro aspecto que faz dos parasitoides de ovos bons agentes de controle é o fato de que podem alcançar a praga em todas as regiões da planta, diferentemente dos inseticidas, que muitas vezes não são eficientes por não atingirem as pragas protegidas no dossel da planta entre as folhas (Bueno et al. 2012).

Assim, por apresentarem um bom potencial de controle de pragas, os parasitoides merecem atenção em relação à sua resposta em cultivos de plantas resistentes a insetos para que possam fazer parte de um eficiente método de MIP.

2.6.1 *Telenomus remus*

Originária da Malásia, a espécie *Telenomus remus* (Nixon, 1937) (Hymenoptera: Platygasteridae) (Figura 5) foi introduzida no Brasil visando o controle de *S. frugiperda*, sendo que alguns relatos referem-se a sua presença em 14 países das Américas e Caribe (Molina-Ochoa et al. 2003). A espécie já foi observada parasitando cinco espécies de *Spodoptera* e tem demonstrado seu alto potencial de controle desses lepidópteros na cultura da soja (Bueno et al. 2012).



Figura 5: Fêmea de *Telenomus remus* parasitando ovos de *Spodoptera frugiperda* (Foto: Adair V. Carneiro)

Cada fêmea, durante sua vida, é capaz de produzir cerca de 270 parasitoides (Morales et al. 2000) e realiza a oviposição de apenas um ovo por ovo do hospedeiro, sendo o superparasitismo raro nessa espécie (Cave 2000). A eficiência deste parasitoide deve-se à sua habilidade de parasitar todas as camadas de ovos da postura (Pomari 2011), o que o diferencia de outros parasitoides capazes de parasitar apenas a camada superior da postura (Goulart 2009). O período de desenvolvimento de ovo a adulto varia de 7 (34°C) a 13,7 dias (23°C) (Gautum 1986). Após a emergência os machos permanecem sobre sua postura de origem, ou procuram outras posturas, à espera de uma fêmea recém-emergida para garantir a cópula e assim assegurar 100% de fertilização das fêmeas (Cave 2000).

A temperatura é um fator importante que pode interferir na biologia da espécie. Estudos realizados em laboratório nas temperaturas de 15, 18, 21, 24, 27, 30 e 33°C mostraram que a 24 e 30°C, as fêmeas apresentam período de desenvolvimento significativamente maior do que o de machos, mas nas demais temperaturas, machos e fêmeas emergiram simultaneamente (Silva 2011). Em relação ao parasitismo, sabe-se que a espécie apresenta alta capacidade. Cruz e Figueiredo (1994) observaram capacidade máxima de parasitismo de 239 ovos/fêmea, com média diária de 39,9, variando de 31 a 48 ovos de *S. frugiperda*.

Telenomus remus além de ter potencial para ser utilizado em programas de controle biológico de *S. frugiperda*, também poderá atuar na diminuição das populações de *S. eridania* e *S. cosmioides*, nas culturas nas quais ocorrem infestações destas pragas. Estudos mostraram que, entre 25 e 31°C, não há diferença significativa no total de número de ovos parasitados comparando-se os hospedeiros *S. frugiperda*, *S. cosmioides* e *S. eridania*, porém, nas menores temperaturas testadas, 19 e 22°C, *S. eridania* apresentou um maior número de ovos parasitados em relação a *S. frugiperda* e a 34°C, o maior número de ovos parasitados foi observado em *S. cosmioides* (Pomari 2011).

Poucos trabalhos tem avaliado o desempenho deste parasitoide, o que aumenta a importância do desenvolvimento de pesquisas básicas, visando conhecer o comportamento deste inseto sob condições ambientais brasileiras, em diferentes hospedeiros e diferentes culturas, incluindo as plantas geneticamente modificadas para resistência à insetos, adquirindo assim conhecimentos básicos para desenvolver um programa de manejo integrado de pragas com a utilização desse inimigo natural.

2.6.2 *Telenomus podisi*

O parasitoide de ovos *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Platygasteridae) é um microhimenóptero que, na fase adulta, apresenta vida livre e se alimenta de néctar (Bueno et al. 2012) e deposita seus ovos no interior dos ovos de diferentes hospedeiros (Corrêa-Ferreira 1993). A distribuição de *T. podisi* vai desde a região Centro-Oeste (Medeiros et al. 1997), até o sul do país (Moreira e Becker 1986). Assim, em regiões subtropicais, a hibernação dos hospedeiros associada a temperaturas médias inferiores a 15°C durante o inverno sugerem que *T. podisi* apresente outras adaptações para sobreviver durante o período da entressafra da soja. A espécie tem sido encontrada em diversos agroecossistemas, parasitando inúmeros pentatomídeos (Barcelos et al. 1994, Corrêa-Ferreira e Moscardi 1995, Torres et al. 1996), porém apresenta preferência por parasitar ovos de *E. heros* (Foerster e Queiroz 1990, Corrêa-Ferreira e Azevedo 2002, Doetzer e Foerster 2007).

Quando adulto, apresenta coloração preta e aproximadamente 1 mm de comprimento (Figura 6). No interior do ovo do hospedeiro esses parasitoides passam pelas fases de ovo, larva e pupa, sendo que 10-12 dias após o parasitismo ocorre a emergência dos adultos. Geralmente os machos emergem de um a dois dias antes que as fêmeas, e essas apresentam fecundidade média de 250 ovos, depositados principalmente nos primeiros dias de vida (Corrêa-Ferreira 1993). Em ovos de *E. heros*, fêmeas de *T. podisi* foram capazes de realizar posturas desde o primeiro dia de vida; entretanto, foi no segundo dia que elas demonstraram maior produção de descendentes e maior proporção de fêmeas em relação ao número de machos gerados (Pacheco e Corrêa-Ferreira 2000). Segundo os mesmos autores, em ovos de *E. heros* a longevidade média da espécie foi de 30,9 dias, sendo que, de modo geral, os machos tiveram longevidade média maior que as fêmeas.



Figura 6: Fêmea de *Telenomus podisi* parasitando ovos de *Euschistus heros* (Foto: Adair V. Carneiro)

Como grande parte dos parasitoides da família Platygasteridae, *T. podisi* apresenta elevada capacidade de busca por hospedeiros (Orr 1988) e alto potencial reprodutivo, podendo atingir uma fecundidade média de 211 ovos da espécie de percevejo *E. heros*. Assim, é importante estabelecer a relação tritrófica entre soja *Bt* – *E. heros* – *T. podisi*, para que esta ferramenta de controle biológico seja eficientemente utilizada.

3. OBJETIVOS

Neste contexto apresentado, o presente trabalho teve como objetivo geral avaliar a influência da soja e milho geneticamente modificados na biologia de pragas não-alvo e seus inimigos naturais.

4. REFERÊNCIAS

Abdelhay, E.S.F.W. 2009. Parecer consolidado sub-comissões setoriais permanentes área de saúde humana e animal. Milho resistente a insetos, MON89034. 124^a Reunião Ordinária da CTNBio Processo: 01200.003326/2008-61. 7p.

Abdullah, M.D., O. Sarnthoy, S. Chaeychomsri, O. Sarnthoy. 2000. Comparative study of artificial diet and soybean leaves on growth, development and fecundity of beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae). Kasetsart Journal: Natural Science. 34: 339-344.

Andow, D.A., Hilbeck, A. 2004. Science-based risk assessment for non-target effects of transgenic crops. BioScience. 54: 637-649.

Bakonyi, G., Szira, F., Kiss, I., Villányi, I., Seres, A., Székacs, A., 2006. Preference test of collembolas on isogenic Bt-maize. European Journal of Soil Biology. 42: S132- S135.

Barcelos, J.A.V., Zanuncio, J.C., Oliveira, A.C., Nascimento, E.C. 1994. Performance em duas dietas e descrição dos adultos de *Brontocoris tabidus* (Signoret) (Heteroptera: Pentatomidae). Anais da Sociedade Entomológica do Brasil. 23: 519-524.

Bavaresco, A., Garcia, M.S., Grutzmacher, A.D., Ringenberg, R.; Foresti, J. 2003. Biologia comparada de *Spodoptera cosmioides* (Walk.) (Lepidoptera: Noctuidae) em cebola, mamona, soja e feijão. Ciência Rural. 33: 993-998.

Bavaresco, A., Garcia, M.S., Grutzmacher, A.D., Ringenberg, R., Foresti, J. 2004. Adequação de uma dieta artificial para criação de *Spodoptera cosmioides* (Walk.) (Lepidoptera: Noctuidae) em laboratório. Neotropical Entomology. 33: 155-161.

Beegle, C.C., Yamamoto, T. 1992. Invitation paper (C. P. Alexander Fund): History of *Bacillus thuringiensis* Berliner Research and development. The Canadian Entomology. 124: 587-616.

Bernardi, O. 2012. Avaliação do risco de resistência de lepidópteros-praga (Lepidoptera: Noctuidae) à proteína Cry1Ac expressa em soja MON 87701 × MON 89788 no Brasil. Piracicaba, SP. 116f. Tese (Doutorado em Ciências). Universidade de São Paulo, USP-Esalq.

Bernardi, O., G.S. Malvestiti, P.M. Dourado, W.S. Oliveira, S. Martinelli, G.U. Berger Head, G.P., and C. Omoto. 2012. Assessment of the high –dose concept and level of control provided by MON 87701 x MON 89788 soybean against *Anticarsia gemmatilis* and *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. Pest Management Science. 68: 1083-1091.

Bokonon-Ganta, A. H., Bernal, J.S., Pietrantonio, P.V., Sétamou, M. 2003. Survivorship and development of fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), on conventional and transgenic maize cultivars expressing *Bacillus thuringiensis* Cry9C and Cry1A(b) endotoxins. International Journal of Pest Management. 49: 169–175.

- Bridi, M. 2012. Danos de percevejos pentatomídeos (Heteroptera: Pentatomidae) nas culturas da soja e do milho na região Centro-Sul do Paraná. Guarapuáva, PR. 73f.. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Estadual do Centro Oeste, UNICENTRO.
- Bueno, A.F., Sosa-Gómez, D.R., Corrêa-Ferreira, B.S., Moscardi, F., Bueno, R.C.O.F. 2012. Inimigos naturais das pragas de soja. In: Soja, Manejo Integrado de Insetos e outros Artropodes-Praga: Hoffman-Campo, C.B., Corrêa-Ferreira, B.S., Moscardi, F. Embrapa Soja. Londrina-PR. 859p.
- Burgiu, G. Lanzini, A., Accinelli, G., Dinelli, G., Bonetti, A., Marotti, I., Ramilli, F. 2007. Evaluation of *Bt* toxin uptake by the non-target herbivore, *Myzuz persicae* (Hemiptera: Aphidae), feeding on transgenic oilseed. Bulletin of Entomological Research. 97: 211-215.
- Capalbo, D.M.F., Hilbeck, A., Andow, D., Snow, A., Bong, B.B., Wan, F.H., Fontes, E.M.G., Osir, E.O., Fitt, G.P., Johnston, J. 2003. Brazil and the development of international scientific biosafety testing guidelines for transgenic crops. Journal of Invertebrate Pathology. 83: 104-106.
- Capinera, J.L. 2005. Distribution, Description and Life Cycle, Host Plant, Damage, Natural enemies. University of Florida. Department of Entomology and Nematology. Publication: August 1999. Revised: November 2005, EENY – 106. In: http://creatures.ifas.ufl.edu/veg/leaf/southern_armyworm.htm.
- Cattaneo, M.G., Yafuso, C., Schmidt, C., Huang, C.H., Rahman, M. 2006. Farm-scale evaluation of the impacts of transgenic cotton on biodiversity, pesticide use, and yield. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA 103: 7571–7576.
- Cavalett, O. 2008. Análise do Ciclo de Vida da Soja. Campinas, SP. 245f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) Universidade de Campinas, UNICAMP.
- Cave, R.D. 2000. Biology, ecology and use in pest management of *Telenomus remus*. Biocontrol News and Information. 21: 21-26.
- Chen, M., Liu, Z.C., Frag, Q., Hu, C., Peng, Y.F., Shelton, A.M. 2009. Analysis of Cry1Ab toxin bioaccumulation in a food chain of *Bt* rice, an herbivore and a predator. Ecotoxicology. 18: 230-238.
- Chilcutt, C. F. et al. 2007. Effects of *Bacillus thuringiensis* transgenic corn on corn earworm and fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) densities. Journal of Economic Entomology. 100: 327-334.
- Cividanes, F. J., Parra, J. R. P. 1994. Zoneamento ecológico de *Nezara viridula* (L.), *Piezodorus guildinii* (West.) e *Euschistus heros* (Fabr.) (Heteroptera: Pentatomidae) em quatro estados produtores de soja do Brasil. Anais de Sociedade Entomológica do Brasil 23: 219-226.

Conab, Companhia Nacional de Abastecimento. 2012a. Acompanhamento da Safra Brasileira. Grãos – Safra 2012/20013. Terceiro levantamento. 30p.

Conab, Companhia Nacional de Abastecimento. 2012b. Estudos de Prospecção de Mercado. Safra 2012/2013. 148p.

Cortez, H. M., Trujillo, J. A. 1994. Incidencia del gusano cogollero y sus enemigos naturales en tres agrosistemas de maiz. Turrialba 44:1-9.

Costa, E.L.N., Lucho, A.P.R., Fritz, L.L., Fiuza, L.M. 2010. Artrópodes e Bactérias Entomopatogênicos. Revista Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento. 38: 4-13.

Corrêa-Ferreira, S.B. 1993. Utilização do parasitóide de ovos *Trissolcus basal* (Wollaston) no controle de percevejos da soja. Embrapa Soja. Circular Técnica 11. Londrina. 40p.

Corrêa-Ferreira, B.S., F. Moscardi. 1995. Seasonal occurrence and host spectrum of egg parasitoids associated with soybean stink bugs. Biological Control. 5:196-202.

Corrêa-Ferreira, B.S., Azevedo, J. 2002. Soybean seed damage by different species of stink bugs. Agricultural and Forest Entomology. 4: 145-150.

Corrêa-Ferreira, B.S., Alexandre, T.M., Pellizaro, E.C., Moscardi, F., Bueno, A.F. 2010. Práticas de manejo de pragas utilizadas na soja e seu impacto sobre a cultura. Embrapa Soja Circular Técnica 78. Londrina. 16p.

Crickmore, N., Zeigler, D.R., Schnepf, E., Van Rie, J., Lereclus, D., Baum, J., Dean, D.H. 2008. *Bacillus thuringiensis* toxin nomenclature. Disponível em: <http://www.lifesci.sussex.ac.uk/home/Neil_Crickmore/Bt/toxins2.html> Acesso em: 15 out. 2012.

Cruz, I., Figueiredo, M.L.C. 1994. Estudos preliminares do parasitóide *Telenomus* sp. Nixon sobre ovos de *Spodoptera frugiperda*: relatório técnico anual do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo. 6:104-105.

Dall'Agnol, A. Embrapa, 2008. Disponível em: <<http://brasilbio.blogspot.com/2008/02/porque-fazemos-biodiesel-desoja.html>> Acesso em: 15 set 2012.

de Souza, L.L. 2012. A logística da Soja na Fronteira Agrícola Norte e Nordeste. Grupo de Pesquisa e Extensão em Logística Agroindustrial ESALQ-LOG. 28p.

Degrande, P.E., Vivan, L.M, 2009. Pragas da soja. Boletim de Pesquisa de Soja. Fundação de Apoio à Pesquisa Agropecuária de Mato Grosso. p. 229-269.

Degrande, P.E., Viavan, L.M. 2005. Pragas da soja. Rondonópolis: Fundação MT. Boletim de pesquisa de soja. 3p.

Desneux, N., Decourtye, A., Delpuech, J.M. 2007. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. Annual Review of Entomology. 52: 81-106.

- Doetzer, A. K., Foerster, L.A. 2007. Efeito da Temperatura no Desenvolvimento, Longevidade e Reprodução de *Trissolcus basalís* (Wollaston) e *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae). *Neotropical Entomology*. 36: 233-242.
- Dutton, A., Klein, H., Romeis, J., Bigler, F. 2002. Uptake of Bt-toxin by herbivores feeding on transgenic maize and consequences for predator *Chrysoperla carnea*. *Ecological Entomology*. 27: 441- 447.
- Embrapa, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. 2008. Cultivo do Milho. Disponível em: < http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Milho/CultivadoMilho_4ed/manejomilho.htm>. Acesso em: 05 out. 2012.
- Faria, M.F., Lundgren, J.G., Fontes, E.M.G., Fernandes, O.A., Schimidt, F., Nguyen Van Tuat, Andow, D.A. 2006. Assessing the effects of *Bt* Cotton on Generalist Arthropod Predator. In: Hilbeck, A., Andow, D.A., Fontes, E.M.G. (ed). Environmental risk assessment of genetically modified organisms: methodologies for assessing Bt cotton in Brazil. CABI publishing. 175-199.
- Fernandes, O.D. 2003 .Efeito do milho geneticamente modificado (MON810) em *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) e no parasitóide de ovos *Trichogramma* spp. Piracicaba, SP. 182f. Tese (Doutorado em Ciências) Universidade de São Paulo, USP-Esalq.
- Fischhoff, D.A., Bowdish, K.S., Perlak, F.J., Marrone, P.G., McCormick, S.M., Niedermeyer, J.G., Dean, D.A., Kusano-Katzmer, K., Mayer, E.J., Rochester, D.E., Rogers, S.G., Finley, R.T. 1987. Insect tolerant transgenic tomato plants. *BioTechnology*. 5:807-813.
- Fischhoff, D.A., Perlak, F.J. 1995. Synthetic plant genes. U.S. Patent 5: 500-365.
- Fiuza, L.M. 2001. *Bacillus thuringiensis*: características e o potencial no manejo de insetos. *Acta Biológica Leopoldensia*, 23:141-156
- Foerster, L.A., Queiróz, J.M. 1990. Incidência natural de parasitismo em ovos de pentatomídeos da soja no Centro-Sul do Paraná. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*. 19: 221-232.
- Galileo, M.H.M., Heinrichs, E.A. 1978. Retenção foliar em plantas de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) resultantes da ação de *Piezodorus guildinii* (Westwood, 1837) (Hemiptera, Pentatomidae), em diferentes níveis e épocas de infestação. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*. 7: 85-98.
- Gallo, D., Nakano, O., Silveira Neto, S., Carvalho, R. P. L., Batista, G. C.; Berti Filho, E., Parra, J. R. P., Zucchi, R. A., Alves, S. B., Vendramin, J. D., Marchine, L. C., Lopes, J. R. S., Omoto, C. 2002. Manual de entomologia agrícola. Piracicaba: FEALQ.
- Gautum, R.D. 1986. Effect of different temperatures and relative humidities on the efficiency of parasitoid, *Telenomus remus* Nixon (Scelionidae: Hymenoptera) in the laboratory. *Journal of Entomological Research*. 8: 89-92.

Gazzoni, D.L., Yorinori J.T. 1995. Manual de identificação de pragas e doenças da soja. Brasília, EMBRAPA - SPI, 128p. (Manuais de Identificação de Pragas e Doenças, 1).

Gill, S.S., Cowles, E.A., Pietrantonio, P.V. 1992. The mode of action of *Bacillus thuringiensis* endotoxins. Annual Review of Entomology. 37: 615-636.

Gomez, S.A. Ávila, C.J. 2001. Controle químico da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera Frugiperda* (Smith, 1792), na cultura do trigo. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2001. 18p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 9).

Goulart, M.M.P., 2009. Seleção hospedeira e interação dos parasitóides de ovos *Trichogramma pretiosum* e *Telenomus remus*: bases para o controle de lepidópteros da soja. Rio Verde, GO. 28f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal). Universidade de Rio Verde, FESURV.

Grazia, J., Fortes, N. D. F., Campos, L. A. 1999. Pentatomoidea. In: Joly, C. B. & Bicudo, C. E. de M. (Eds). Biodiversidade do Estado de São Paulo, Brasil: Síntese do conhecimento ao final do século XX. Invertebrados terrestres. v.5. FAPESP, São Paulo, Brasil, p.101-112.

Groot, A.T., Dicke, M. 2002. Insect-resistant transgenic plants in a multitrophic context. The Plant Journal. 31: 387-406.

Habib, M.E.M., Paleari, M.L., Amaral, M.E.C. 1983. Effect of three larval diets on the development of the armyworm, *Spodoptera latifascia* Walker, 1856 (Lepidoptera: Noctuidae). Revista Brasileira de Zoologia. 1: 177-182.

Han, S., J. A. Craig, C. D. Putnam, N. B. Carozzi, and J. A. Tainer. 1999. Evolution and mechanism from structures of an ADP-ribosylating toxin and NAD complex. Nature Structural Biology. 6:932-936.

Hin, C.J.A. 2002. Perspectivas de mercado para soja sustentável na Holanda. CLM Onderzoek en Advies BV (Centro de Pesquisa para a Agricultura e Meio Ambiente) Utrecht, Holanda. Disponível em: <http://www.bothends.org/strategic/soy10.pdf> Acesso em: 25 set. 2012.

Hoef, R. G. Desafios para a obtenção de altas produtividades de milho e de soja nos EUA. Informações Agronômicas, Piracicaba, n. 104, p. 1-4, 2003.

Homrich, M.S., Passaglia, L.M.P., Pereira, J.F., Bertagnolli, P.F., Salvadori, J.R., Nicolau, M., Kaltchuk-Santos, E., Alves, L.B., Bodanese-Zanettini, M.H. 2008. Agronomic performance, chromosomal stability and resistance to velvetbean caterpillar of transgenic soybean expressing *cryIAc* gene. Pesquisa Agropecuária Brasileira. 43: 801-807.

- Huang, F., Leonard, B.R., Gable, R.H., 2006. Comparative susceptibility of European corn borer, southwestern corn borer, and sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae) to Cry1Ab protein in a commercial *Bacillus thuringiensis* corn hybrid. *Journal of Economic Entomology*. 99, 194- 202.
- Jackson, R.E., Marcus, M.A., Gould, F., Bradley Junior, J.R., Van Duyn, J.W. 2007. Cross-resistance responses of crylac-selected *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) to *Bacillus thuringiensis* protein Vip3A. *Journal of Economic Entomology*. 100:108-106.
- James, C. 2010. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops. The First Fourteen Years, 1996 to 2009. In: International Service for the Acquisition of Agri-Biotech Applications.
- Jenkins, J.L., Lee, M.K., Sangadala, S., Adang, M.J., Dean, D.H. 1999. Binding of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac toxin to *Manduca sexta* aminopeptidase-N receptor is not directly related to toxicity. *FEBS Letters*. 462: 373-376.
- Jouanin, L., Bonade-Bottino, M., Girard, C., Morrot, G., Giband, M. 1998. Transgenic plants for insect resistance – review. *Plant Science, Shannon*, v.131, p.1-11.
- Kim, Y.S., Roh, J.Y., Kang, J.N., Wang, Y., Shim, H.J., Li, M.S., Choi, J.Y., and Je, Y.H. 2008. Mutagenesis of *Bacillus thuringiensis* cry1Ac gene and its insecticidal activity against *Plutella xylostella* and *Ostrinia furnacalis*. *Biological Control*. 47: 222–227.
- Kuiper, H.A., Kleter, G.A., Noteborn, H.; Kok, E.J. 2001. Assessment of the food safety issues related to genetically modified foods. *The Plant Journal*, v.27, p. 503-528.
- Kouser, S., Qaim, M. 2011. Impact of *Bt* cotton on pesticide poisoning in smallholder agriculture: A panel data analysis. *Ecological Economics*. 70: 2105-2113.
- Kuiper, H.A., Kleter, G.A., Noteborn, H., Kok, E.J. 2001. Assessment of the food safety issues related to genetically modified foods. *The Plant Journal*. 27:503-528.
- Lambert, B., Peferoen, M. 1992. Insecticidal promise of *Bacillus thuringiensis*. *Bioscience* 42: 112-122.
- Liu, W., Wang, F., Zhang, F. Meng, Z., Wang, F. 2000. Evaluation on role of predators in *Helicoverpa armigera* control. *Chinese Journal of Biological Control*. 16: 97-101.
- Levy, R.; Habeck, D.H. 1976. Descriptions of the larvae of *Spodoptera sunia* and *S. latifascia* with a key to the mature *Spodoptera* larvae of the eastern United States (Lepidoptera: Noctuidae). *Annals of the Entomological Society of America*. 69: 585-588.
- Lockwood, J.A., Story, R.N. 1986. Adaptive functions of nymphal aggregation in the southern green stink bug *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae). *Environmental Entomology*. 15:739-749.

Loguercio, L.L., Carneiro, N.P., Carneiro, A.A. 2002. Milho Bt. Revista Biotecnologia.4: 46-52.

Macrae, T.C., Baur, M.E., Boethel, D.J., Fitzpa-Trick, B.J., Gao, A.G., Gamundi, J.C., Harrison, L.A., Kabuye, V.T.; Mcpherson, R.M., Miklos, J.A., Paradise, M.S., Toedebusch, A.S., Viegas, A. 2005. Laboratory and field evaluations of transgenic soybean exhibiting high dose expression of a synthetic *Bacillus thuringiensis cryIA* gene for control of Lepidoptera. Journal of Economic Entomology. 98: 577-587.

Manfredi-Coimbra, S., Garcia, M. S., Loeck, A. E., Botton, M., Foresti, J. 2005. Aspectos biológicos de *Argyrotaenia sphaleropa* (Meyrick, 1909) (Lepidoptera: Tortricidae) em dietas artificiais com diferentes fontes protéicas. Ciência Rural. 35: 259-265.

MAPA, Ministério da Agricultura. 2012. Vegetal - Culturas – Milho. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/milho>> Acesso em: 30 set. 2012.

Martinelli, S., Omoto, C. 2005. Resistência de insetos a plantas geneticamente modificadas: relevância da implantação de estratégias proativas de manejo da resistência. Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento. 34: 67-77.

Mattana, A.L., Foerster, L.A. 1988. Ciclo de vida de *Spodoptera eridania* (Cramer, 1782) (Lepidoptera: Noctuidae) em um novo hospedeiro, Bracatinga (*Mimosa scabrella* Benthham) (Leguminosae). Anais da Sociedade Entomológica do Brasil. 17: 173-183.

Mcpherson, R.M., Macrae, T.C. 2009. Evaluation of transgenic soybean exhibiting high expression of a synthetic *Bacillus thuringiensis cryIA* transgene for suppressing lepidopteran population densities and crop injury. Journal of Economic Entomology. 102: 1640-1648.

Medeiros, M. A., Schimidt, F.G.V., Liácomo, M.S., Carvalho, V. F., Borges, M. 1997. Parasitismo e predação em ovos de *Euchistus heros* (Fab.) (Heteroptera: Pentatomidae) no Distrito Federal, Brasil. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil. 26: 397-401.

Missão, M. R. 2006. Soja: origem, classificação, utilização e uma visão abrangente do mercado. Maringá Management: Revista de Ciências Empresariais, v. 3, n.1 - p.7-15,

Molina-Ochoa, J., Carpenter, J.E., Heinrichs, E.A., Foster, J.E. 2003. Parasitoids and parasites of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas and Caribbean basin: na inventory. Florida Entomologist. 86:254-289.

Morales, J., Gallardo, J.S., Vásquez, C., Ríos, Y. 2000. Patrón de emergencia, longevidad, parasitismo y proporción sexual de *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae) com relación al cogollero del maíz. Bioagro. 12: 47-54.

Moreira, G. R. P., Becker, M. 1986. Mortalidade de *Nezara viridula* (Linnaeus, 1758) (Heteroptera: Pentatomidae) no estágio de ovo na cultura da soja: II. Parasitóides. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil. 15: 291-308.

- Mundstock, C.M., Silva, P.R.F. da. 2005. Manejo da cultura do milho para altos rendimentos de grãos. UFRS. Porto Alegre, RS. 49p.
- Nora, I., Reis Filho, W., Stuker, H. 1989. Danos de lagartas em frutos e folhas da macieira: Mudanças no agroecossistema ocasionam o surgimento de insetos indesejados nos pomares. *Agropecuária Catarinense*. 2: 54-55.
- Nunes, D.H., 2010. Efeitos do algodoeiro geneticamente modificado (Bollgard®) em organismos não-alvo. Piracicaba, SP. 211f. Tese (Doutorado em Ciências). Universidade de São Paulo. USP-Esalq.
- Nunes, C.N., Corrêa-Ferreira, S.B., 2002. Danos causados à soja por adultos de *Euschistus heros* (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae), sadios e parasitados por *Hexacladia smithii* Ashmead (Hymenoptera: Encyrtidae). *Neotropical Entomology*. 31:109-113.
- Obrist, L.B., Klein, H., Dutton, A., Bigler, F. 2006. Assessing the effects of *Bt* maize on the predatory mite *Neoseiulus cucumeris*. *Experimental and applied acarology*. 38: 125–139.
- Orr, D.B. 1988. Scelionidae wasps (Wollaston) as biological control agents: a review. *Florida Entomologist*. 71: 506-528.
- Pacheco, D.J.P., Corrêa-Ferreira, B.S. 2000. Parasitismo de *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae) em populações de percevejos pragas da soja. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*. 29: 295-302.
- Panizzi, A. R., Slansky Jr, F. 1985. Review of phytophagous pentatomids (Hemiptera: Pentatomidae) associated with soybean in the Americas. *Florida Entomologist*. 68: 184-214.
- Parra, J.R.P. 2006. A prática do controle biológico no Brasil. In: Pinto, A.S.; Nava, D.E., Rossi, M.M., Malerbo-Souza, D.T. (Ed.). *Controle biológico de pragas na prática*. Piracicaba: Prol, 2006. P. 11-24.
- Pastrana, J.A. 2004. Los lepidópteros argentinos sus plantas hospedadoras y otros sustratos alimenticios. *Revista de La Sociedad Entomológica Argentina, Buenos Aires*, 350 p.
- Parrott, W.A., All, J.N., Adang, M.J., Bailey, M.A., Boerma, H.R., Stewart C.N. 1994. Recovery and evaluation of soybean plants transgenic for a *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* insecticidal gene. *In Vitro Cellular and Developmental Biology*. 30P: 144-149.
- Peixoto, C. de M. 1999. Tudo o que você gostaria de saber sobre OGMs. *Cultivar*. 1: 8-10.

- Pitre, H.N., D.B. Hogg. 1983. Development of the fall armyworm on cotton, soybean and corn. *Journal of the Georgia Entomological Society*. 18: 182-7.
- Pogue, G.M. 2002. A world revision of the genus *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae). *Memoirs of the American Entomological Society*. 43:1-202
- Polanczyk, R.A., Martinelli, S., Omoto, C., Alves, S.B. 2003. *Bacillus thuringiensis* no Manejo Integrado de Pragas: Do uso convencional como pulverização à biotecnologia. *Revista Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento*. 31: 18-27.
- Pomari, A.F. 2011. Parasitismo de *Telenomus remus nixon* (hymenoptera: scelionidae) em ovos de *Spodoptera* spp. (Lepidoptera: Noctuidae) pragas de algodão, milho e soja. Londrina, PR. 86f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Estadual de Londrina.
- Priest, F.G. 1992. Biological Control of Mosquitoes and other Biting Flies by *Bacillus sphaericus* and *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Applied Bacteriology* 72: 357-369.
- Ramos, P.; Buainain, A.M.; Beik, W.; Reydon, B.P.; Guedes, S.N.; Hoffman, R.; da Silva, J.G.; Takagi, M.; Romeiro, A.R.; da Silveira, J.M.F.J.; Borges, I.C de, Fonseca, M.G. 2007. Dimensões do Agronegócio Brasileiro: Políticas, Instituições e Perspectivas. MDA, Brasília- Distrito Federal. 362p.
- Santos, W.J. 2001. Identificação, biologia, amostragem e controle das pragas do algodoeiro, p.181-203. Algodão: Tecnologia de Produção/ Embrapa Agropecuária Oeste; Embrapa Algodão. Dourados, Embrapa Agropecuária Oeste, 296p.
- Santos, W.J. 2007. Manejo das pragas do algodão com destaque para o cerrado brasileiro. In: FREIRE, E.C. (Ed.) Algodão no cerrado do Brasil. Brasília: Associação Brasileira dos Produtores de Algodão, p. 403-521.
- Santos, W.J., Santos, K.B., Santos, R.B. 2003. Ocorrência, descrição e hábitos de *Spodoptera* spp. Em algodoeiro no Brasil. In: Congresso Brasileiro do Algodão, 4., 2003, Goiânia. Anais... Campina Grande: Embrapa CNPA.
- Santos, G.P., Cosenza, G.W., Albino, J.C. 1980. Biologia de *Spodoptera latifascia* (Walk., 1856) (Lepidoptera: Noctuidae) sobre folhas de eucalipto. *Revista Brasileira de Entomologia*. 24: 153-155.
- Santos, K. B. dos, Meneguim, A.M., Neves, P.M.O.J. 2005. Biologia de *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes hospedeiros. *Neotropical Entomology*. 34: 903-910.
- Sarmiento, R.A., Aguiar, R.W.S., Aguiar, R.A.S.S., Vieira, S.M.J., Oliveira, H.G., Holtz, A.M. 2002. Revisão da biologia, ocorrência e controle de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) em milho no Brasil. *Bioscience Journal*. 18: 41-48.
- Sarto, V.C., Kuss-Rogia, R.C.R., Zazycki, L.C.F., Bento, J.M.S., Parra-Pedrazzoli, A.L. 2011. Comportamento sexual de *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera:

Noctuidae). In: Encontro Brasileiro de Ecologia Química, 7. Niterói. Programação e livros de resumos... Niterói: Universidade Fluminense, 2011. P.65.

Schnepf, R. D., Dohlgan, E., Bolling, C. 2001. Agriculture in Brazil and Argentina: developments and prospects for major field crops. ERS agriculture and trade report. Disponível em: <<http://www.ers.usda.gov/publications/wrs013/>> Acesso em: 26 set. 2012.

Silva, C.S.B. 2011. Biologia de *Spodoptera frugiperda* e de seus parasitóides de ovos *Telenomus remus*, *Trichogramma atopovirilia* e *T. pretiosum*. Piracicaba, SP. 126 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, USP.

Silva, A.G.A., Gonçalves, C.R., Galvão, D.M., Gomes, J., Silva, M.M., Simon, L. 1968. Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil: seus parasitos e predadores. Parte II, 1º Tomo, Insetos, hospedeiros e inimigos naturais. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura, 622p..

Silvain, J., Lalanne-Cassou, B. 1997. Distinction entre *Spodoptera latifascia* (Walker) et *Spodoptera cosmioidea* (Walker), bona species (Lepidoptera: Noctuidae). Revue Française d'Entomologie (Nouvelle Série). 19: 95-97.

Scriber, J.M. 1981. Sequential diets, metabolic costs and growth of *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae) feeding upon dill, lima bean and cabbage. Oecologia. 51: 175-180.

Soo Hoo, C.F., Fraenkel, G. 1966. The selection of food plants in a polyphagous insect, *Prodenia eridania* (Cramer). J. Insect Physiol. 12: 693-709.

Sosa-Gómez, D.R., Corrêa-Ferreira, B.S., Hoffman-Campo, C.B., Corso, I.C., Oliveira, R.J., Moscardi, F., Panizzi, A.R., Bueno, A.F., Hirose, E. 2010. Manual de Identificação de Insetos e Outros Invertebrados da Cultura da Soja. 89 p. Embrapa Soja. Documentos, 269.

Specht, A.; Silva, E., Link, D. 2004. Noctuídeos (Lepidoptera: Noctuidae) no museu entomológico Ceslau Biezanko, Departamento de Fitossanidade, Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”, Universidade Federal de Pelotas, RS, Revista Brasileira de Agrociências. 4: 389-409.

Stewart, C.N., Adang, M.J., All, J.N., Boerma, H.R., Cardineau, G., Tucker, D., Parrott, W.A. 1996. Genetic transformation, recovery, and characterization of fertile soybean transgenic for a synthetic *Bacillus thuringiensis cryIAc* gene. Plant Physiology. 112: 121-129,

Tabashnik, B.E., Rensburg, V.J.B.J., Carrière, Y. 2009. Field-evolved insect resistance to *Bt* crops: Definition, theory, and data. Journal of Economic Entomology. 102: 2011-2025.

Thomazoni, D. 2008. Impacto do algodoeiro geneticamente modificado (Bollgard®) sobre a biodiversidade de artrópodes. Dourados, MS. 86f. Dissertação (Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade). Universidade Federal da Grande Dourados, UFGD.

Todd, E.L., Poole, R.W. 1980. Keys and illustrations for the armyworm moths of the Noctuid Genus *Spodoptera* Guenée from the Western Hemisphere. Annals of the Entomological Society of America. 73: 722-738.

Torres, J.B., Zanuncio, J.C., Zanuncio, T.V. 1996. Produção e uso de percevejos predadores (Pentatomidae, Asopinae) no controle biológico de lagartas desfolhadoras, p. 41-51. In Workshop sobre Fitossanidade Florestal do Mercosul, 1, Santa Maria, Centro de Pesquisas Florestais, 80p.

Viana, P.A., Cruz, I., Waquil, J.M. 2006. In: Embrapa Milho e Sorgo – Sistema de Produção, 1- Pragas – Paulo Afonso Viana, Invan Cruz e José Magid Waquil. Disponível em: < [HTTP:// sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/ Milho/ Cultivado Milho /prsementes.htm](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Milho/CultivadoMilho/prsementes.htm) > Acesso em: 21 nov. 2012.

Vicente, C.B., Júnior, J.C.F. 2011. Controle biológico de pulgões na cultura do milho (*Zea mays* L.). Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer. 7: 12.

Vidotto, F.L., Kuss-Rogia, R.C.R., Sosa-Gómez, D.R., Roggia, S., Parra-Pedrazzoli, A.L., Bento, J.M.S., Repertório comportamental de chamanento, corte e cópula de *Spodoptera eridania* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae). 2012. In. Jornada Acadêmica da Embrapa Soja. P.43-48. Embrapa Soja, Documentos, 333.

Villas-Bôas, G.L., Panizzi, A.R. 1980. Biologia de *Euschistus heros* (Fabricius, 1789) em soja (*Glycyne max* L. Merrill). Anais da Sociedade Entomológica do Brasil. 9: 105-113.

Vojtech, E., Meissle, M., Poppy, G.M. 2005. Effects of *Bt* maize on the herbivore *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) and the parasitoid *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae). Transgenic Research. 14: 133–144.

Wang, Z.Y., Wu, Y., He, K.L., and Bai, S.X. 2007. Effects of transgenic *Bt* maize pollen on longevity and fecundity of *Trichogramma ostriniae* in laboratory conditions. Bull Insectol. 60: 49–55.

Warren, G. W. 1997. Vegetative insecticidal proteins: novel proteins for control of corn pests. In N. Carozzi and M. Koziel (ed.), Advances in insect control: the role of transgenic plants. Taylor and Francis. p. 109–121

Whalon, M.E., Wingerd, B.A. 2003. *Bt*: Mode of Action and Use. Archives of Insect Biochemistry and Physiology. 54:200-211.

Whitehouse, M.E.A., Wilson, L.J. and Constable, G.A. 2007. Target and non-target effects on the invertebrate community of Vip cotton, a new insecticidal transgenic. Australian Journal of Agricultural Research. 58: 273–285.

Yu, H.L., Yun, H.L., Kong, M.W. 2011. Risk assessment and ecological effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* crops on non-target organisms. *Journal of Integrative Plant Biology*. 53: 520-538.

Zenker, M.M., Specht, A., Courseuil, E. 2007. Estágios de imaturos de *Spodoptera cosmioides* (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista Brasileira de Zoologia*. 24: 99-107.

5. ARTIGO 1: INFLUÊNCIA DA SOJA GENETICAMENTE MODIFICADA (*Bt*) NO DESENVOLVIMENTO E REPRODUÇÃO DE *Spodoptera eridania* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) E DO PARASITOIDE DE OVOS *Telenomus remus* (HYMENOPTERA: PLATYGASTRIDAE)

Resumo

O cultivo de plantas geneticamente modificadas com genes de resistência a insetos provenientes de *Bacillus thuringiensis* Berliner (*Bt*) é crescente no mundo todo. Assim, este estudo avaliou o consumo foliar e a biologia comparada de *Spodoptera eridania* (Cramer) alimentada com a soja *Bt* MON 87701 x MON 89788 e sua isolinha não *Bt*. O trabalho também avaliou a biologia comparada do parasitoide de ovos *Telenomus remus* Nixon em ovos de *S. eridania* oriundos de mariposas provenientes de lagartas alimentadas em soja *Bt* (MON 87701 x MON 89788) e sua isolinha não *Bt*. Os resultados demonstraram que a soja *Bt* não afetou o consumo foliar da praga, mas proporcionou redução de dois dias em sua fase larval, que em ambos os tratamentos apresentou 6 ínstaes. Apesar disso, a sobrevivência da fase larval (%), o peso das pupas, a razão sexual, a fecundidade das mariposas, a longevidade das mariposas fêmeas e a viabilidade dos ovos de *S. eridania* não diferiram entre as linhagens de soja. A longevidade dos machos foi maior quando as lagartas da praga foram alimentadas com soja *Bt*. Embora, no geral, a soja *Bt* teve pouca influência no desenvolvimento e reprodução de *S. eridania*, o parasitismo de *T. remus* foi menor em ovos dessa praga alimentada neste tratamento, o que precisam ser mais bem estudadas, para se determinar a causa dessa redução no parasitismo e possíveis estratégias de mitigação desse efeito negativo da tecnologia.

Palavras-chave: resistência a insetos, praga não-alvo, inimigo natural, parasitoide de ovos, organismo geneticamente modificado.

5.1 Introdução

Diversos estudos tem demonstrado o crescente cultivo de plantas *Bt* no mundo todo (Bobrowski et al. 2003), devido a sua grande eficiência, aliado à sua praticidade. Essas plantas geneticamente modificadas expressam proteínas tóxicas (Cry) a diferentes alvos, com destaque aos coleópteros e, principalmente, lepidópteros-praga (Yu et al. 2011). As culturas de milho e algodão *Bt* são cultivadas em larga escala mundial, visando a supressão populacional de diferentes pragas-alvo, que varia de acordo com a região de cultivo (James 2010). A soja *Bt* (MON 87701 x MON 89788), que expressa a proteína Cry1Ac, foi recentemente desenvolvida pela empresa Monsanto Ltda e está liberada para o cultivo devendo ser comercializada em breve (CTNBio 2010).

Assim como verificado para milho e algodão, acredita-se que essa nova tecnologia de combate às pragas na soja será adotada pela maioria dos produtores. Essa linhagem de soja, MON 87701 x MON 89788, apresenta grande eficiência na regulação populacional dos principais lepidópteros-praga da cultura como a lagarta-da-soja, *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidæ) e a falsa-medideira, *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidæ) (Bernardi et al. 2012). Porém, mesmo com os benefícios ambientais apresentados com o cultivo de plantas *Bt*, diversos estudos demonstram que ainda não é claro o impacto dessa tecnologia sobre organismos não-alvo (Liu et al. 2005a, Naranjo 2005, Faria et al. 2007, Whitehouse et al. 2007).

Dentre os organismos não-alvo que vem ganhando importância econômica na cultura da soja como praga, encontra-se a lagarta-das-vagens, *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidæ) sendo que, em algumas regiões sojicultoras do Brasil tem sido considerada praga-chave (Bueno et al. 2011). Esse inseto apresenta hábito polífago (Michereff-Filho et al. 2008, Delaney 2012), o que provavelmente facilita a sua adaptação nos diferentes agroecossistemas. Na cultura da soja, o potencial de desfolha de *S. eridania* é semelhante ao de *A. gemmatalis* e *C. includens* (Bueno et al. 2011), além de se alimentar também da vagem (Santos et al. 2005, Bueno et al. 2008, Bueno et al. 2010). Alguns estudos demonstram que com a adoção dos cultivos *Bt* ocorre uma redução no uso de inseticidas (Sisterson et al. 2007, Hutchison et al. 2010, Kouser e Qaim 2011, Lu et al. 2012), o que pode favorecer as pragas não-alvo (Zhao et al. 2011), incrementando assim o seu potencial de dano. Neste contexto, torna-se importante conhecer a influência que plantas *Bt* podem exercer não só nas pragas não-alvo, mas também em seus inimigos naturais. Atualmente existe uma gama de informações

contraditórias, variando de acordo com o táxon estudado, assim como a metodologia utilizada para avaliação do impacto do *B. thuringiensis* sobre esses organismos (Lovei et al. 2009).

Dentre os inimigos naturais do complexo *Spodoptera*, destaca-se o parasitoide de ovos *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae) (Bueno et al. 2008, Pomari et al. 2012). A eficiência deste parasitoide deve-se à sua habilidade de parasitar todas as camadas de ovos da postura, sendo que cada fêmea pode dar origem a aproximadamente 270 novos indivíduos (Morales et al. 2000). Assim, em razão do complexo *Spodoptera* não ser alvo da soja *Bt* MON 87701 x MON 89788, a liberação de *T. remus* para controle desses noctuídeos pode ser uma alternativa a ser adotada em relação ao controle químico. Para que isso seja possível futuramente, torna-se indispensável o conhecimento do impacto que as plantas *Bt* podem apresentar sobre esse parasitoide de ovos, pois será um fator determinante para o sucesso no controle biológico de pragas como a *S. eridania*. Desse modo, o presente estudo objetivou avaliar a influência da soja *Bt* sobre as características biológicas de *S. eridania* e o impacto sobre o desenvolvimento do parasitoide de ovos *T. remus*.

5.2 Material e Métodos

Este estudo foi realizado em condições controladas de laboratório [$25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa (UR) de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h]. Nessas condições foram conduzidos três bioensaios para avaliar o impacto da soja *Bt* sobre a praga e o seu inimigo natural, sendo eles: biologia de *S. eridania* em soja *Bt* e não *Bt* (bioensaio 1), comparação do consumo foliar de *S. eridania* em soja *Bt* e não *Bt* (bioensaio 2), e a biologia de *T. remus* desenvolvido em ovos de *S. eridania* mantidas em soja *Bt* e não *Bt* (bioensaio 3).

5.2.1 Criação e manutenção de *S. eridania* e *T. remus*

Os ovos e lagartas de *S. eridania* utilizados no estudo foram provenientes de uma criação já estabelecida do Laboratório da Embrapa Soja, assim como o parasitoide *T. remus*, criado de acordo com a metodologia descrita por Pomari et al. (2012) a aproximadamente 34 gerações.

5.2.2 Semeadura e manejo cultural da soja

A soja utilizada foi desenvolvida e disponibilizada pela empresa Monsanto do Brasil Ltda. Foi utilizada a soja *Bt* MON 87701 x MON 89788 que expressa a proteína Cry1Ac e sua isolinha não *Bt*. O material foi semeado em vasos plásticos (8 L) que foram mantidos em casa de vegetação. Em relação aos tratos culturais, procedeu-se semanalmente ao controle de oídio, aplicação de produto a base de enxofre (S) (Kumulus®), na dose de 0,5 g.L⁻¹.

5.2.3 Bioensaio 1: Biologia comparada de *S. eridania* em soja *Bt* e não *Bt*

A coleta de folhas para oferta às lagartas ocorreu a partir do estágio V₇ de desenvolvimento da cultura (Feher e Caviness 1977). Previamente à oferta das folhas para as lagartas, procedeu-se a profilaxia do material, que permaneceu submerso por aproximadamente 15 min em solução de água + hipoclorito de sódio a 5%. Após esse período, o material foi enxaguado e distribuído sobre papel toalha por 2 h até estar completamente seco.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com dois tratamentos e quatro repetições (n=20 lagartas.repetição⁻¹). Em copos parafinados (150 mL), foram individualizadas 80 lagartas recém-eclodidas de *S. eridania* para cada tratamento, avaliando-se diariamente o ínstar larval, até atingirem a fase de pupa. As folhas de soja foram oferecidas *ad libitum*. No intervalo de 24 h após atingirem a fase de pupa, essas foram separadas por sexo, e posteriormente pesadas (mg) em balança analítica. Após a pesagem, as pupas permaneceram individualizadas nos mesmos copos parafinados até a emergência dos adultos.

Após a emergência, a formação dos casais foi realizada com, no máximo, 24 h de diferença de idade entre os espécimes para avaliação dos parâmetros biológicos da fase adulta. As mariposas foram colocadas em gaiolas de tubo PVC (10 cm de diâmetro e 21,5 cm de altura), envoltos por um papel sulfite na face interna, para oviposição das fêmeas. Dentro de cada tubo, foi colocado um chumaço de algodão embebido com solução de água e mel (10%), destinado à alimentação das mariposas. Os ovos foram coletados diariamente, e colocados em placas de Petri, para posterior análise da fecundidade das fêmeas e viabilidade (%) dos ovos da praga desenvolvida em soja *Bt* e não *Bt*.

5.2.4 Bioensaio 2: Consumo foliar de lagartas *S. eridania* em soja *Bt* e não *Bt*

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com dois tratamentos e cinco repetições ($n=10$ lagartas.repetição⁻¹). A coleta de folhas teve início a partir do estágio V₇ (Feher e Caviness 1977) da cultura da soja. O procedimento de profilaxia foliar, antes de serem ofertadas à praga, foi o mesmo utilizado para o estudo de biologia de *S. eridania* descritos no bioensaio 1.

Posteriormente, essas folhas foram oferecidas à lagartas de 5º ínstar de *S. eridania*, para comparar o consumo foliar em isolinhas de soja *Bt* e não *Bt*. Paralelamente, utilizou-se uma testemunha (com ausência da praga) para avaliar a redução foliar devido à desidratação, que apresentou a média de 5% de redução da área foliar, permitindo corrigir a área consumida. As avaliações ocorreram utilizando-se o equipamento de medição foliar modelo LICOR 300, onde as folhas eram medidas antes de serem oferecidas às lagartas (área inicial) e 24 h após o seu consumo (área final), até os insetos atingirem a fase de pré-pupa, quando cessaram a alimentação (Bueno et al. 2011).

5.2.5 Bioensaio 3: Biologia de *T. remus* em ovos de *S. eridania* oriundas de lagartas alimentadas com soja *Bt* e não *Bt*

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com dois tratamentos e quatro repetições ($n=1$ postura com $\cong 100$ ovos de *S. eridania*.repetição⁻¹). Foram utilizadas posturas com até 24 h de desenvolvimento embrionário provenientes de *S. eridania* que foram alimentadas com soja *Bt* e não *Bt* na fase larval. Em ambos os tratamentos, as posturas ofertadas para o parasitismo ($n=1$ postura com $\cong 100$ ovos de *S. eridania*.repetição⁻¹) foram coladas com cola atóxica Tenaz® em cartelas de cartolina branca (0,8 cm x 5 cm).

Fêmeas de *T. remus* recém-emergidas (com até 24 h) foram individualizadas em tubos tipo Duran (1 cm x 6 cm), contendo no interior uma gotícula de mel puro para alimentação. As cartelas foram individualmente introduzidas nos tubos onde havia uma fêmea, sendo posteriormente vedados com filme plástico. O parasitismo foi permitido por 24 h, e após este período, as cartelas foram retiradas e transferidas separadamente para tubos de vidro (8 cm x 2 cm de diâmetro), até a emergência dos adultos. As fêmeas parentais também permaneceram nas câmaras climatizadas, nas mesmas condições em que ocorreu o experimento para observação diária e registro da longevidade. Foram

avaliados os seguintes parâmetros biológicos: longevidade das fêmeas parentais (dias), período ovo-adulto (dias), porcentagem de parasitismo (%), viabilidade do parasitismo (emergência) e razão sexual.

5.2.6 Análise Estatística

Os resultados dos diferentes bioensaios foram submetidos às análises exploratórias para avaliar as pressuposições de normalidade dos resíduos (Shapiro e Wilk 1965), a homogeneidade de variância dos tratamentos e a aditividade do modelo (Burr e Foster 1972) para permitir a aplicação da ANOVA. As médias foram então comparadas pelo teste *t* de Student ($P \leq 0,05$) (SAS Institute 2001).

5.3 Resultados

5.3.1 Consumo foliar e aspectos biológicos de *S. eridania* em soja *Bt* e não *Bt*

Os resultados obtidos comprovam que a soja *Bt* MON 87701 x MON 89788 não controla lagartas de *S. eridania*, visto que a sobrevivência da fase larval foi igual entre os tratamentos e superior a 80% (Tabela 1). A soja *Bt* também não afetou o consumo foliar da praga, mas proporcionou redução de aproximadamente dois dias em sua fase larval (Tabela 1). Apesar disso, o peso das pupas, a razão sexual, a fecundidade das mariposas, a longevidade das mariposas fêmeas e a viabilidade dos ovos de *S. eridania* não diferiram entre a soja *Bt* e não *Bt* (Tabelas 1 e 2). Diferentemente, a longevidade dos machos das mariposas provenientes da soja *Bt* foi três dias maior comparado a soja não *Bt* (Tabela 2).

5.3.2 Aspectos biológicos de *T. remus* desenvolvido em ovos de *S. eridania* criadas em soja *Bt* e não *Bt*

Os ovos de *S. eridania* que na fase larval foram alimentadas com soja *Bt* MON 87701 x MON 89788 proporcionaram uma significativa redução do parasitismo (%) de *T. remus*, que foi de $50,68 \pm 4,94$ (média \pm EP), enquanto que nos ovos da praga desenvolvida em soja não *Bt* essa taxa foi de $73,68 \pm 2,20$ (média \pm EP). Os demais parâmetros biológicos de *T. remus*, como a longevidade de fêmeas parentais, período

ovo-adulto (dias), porcentagem de parasitismo, viabilidade de parasitismo e razão sexual não diferiram entre os tratamentos (Tabela 3).

5.4 Discussão

Embora a proteína Cry1Ac expressa pela soja *Bt* seja específica para lepidópteros (Ali et al. 2006), nosso estudo demonstrou que *S. eridania* não é controlada por esse evento expresso pela soja *Bt* MON 87701 x MON 89788. A inatividade de Cry1Ac em *S. eridania* é ratificada pelo consumo foliar semelhante das lagartas dessa espécie em soja *Bt* e não *Bt*, assim como pela pequena influência dessa proteína nos parâmetros biológicos da fase larval e adulta da praga. A ineficiência da proteína Cry1Ac contra lagartas do gênero *Spodoptera* foi previamente reportada na literatura (Santos et al. 2009, Luttrell et al. 1999, Adamczyk et al. 2008, Siqueira e Miranda 2009, Greenberg et al. 2010) e possivelmente está relacionado com a tolerância do gênero a diferentes proteínas de *Bt*, a variabilidade genética entre as populações da praga e/ou a inativação da proteína inseticida por proteases produzidas por essas pragas (Miranda et al. 2001, Rahman et al. 2012).

A diferença na duração da fase larval e longevidade dos machos entre os insetos alimentados com soja *Bt* e não *Bt* não comprometem a sincronia de acasalamento, pois ao longo do ano há uma sobreposição de gerações (Embrapa 2010), o que permite a cópula entre indivíduos que emergem na soja *Bt* com aqueles oriundos das áreas de refúgio (soja não *Bt*). Isso contribui para que não haja seleção de populações resistentes da espécie.

É importante salientar que a ausência de efeitos diretos da soja *Bt* sobre organismo não-alvo, como observada para *S. eridania*, pode variar de espécie para espécie estudada. Vários níveis de suscetibilidade ao *B. thuringiensis* foram relatados em diferentes espécies de insetos (Schnepf et al. 1998) e efeitos adversos de plantas *Bt* em pragas não-alvo foram observados por diversos autores. Por exemplo, Vojtech et al. (2005) verificaram que a espécie *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) apresenta sensibilidade ao milho *Bt* (Cry1Ab) desenvolvido para o controle de *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae). As lagartas de *Mamestra brassicae* (Lepidoptera: Noctuidae) apresentam elevado índice de mortalidade quando se alimentam de couve chinesa *Bt* (Cry1Ac) resistente à *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) (Kim et

al. 2008), assim como a espécie não-alvo *Sesamia calamistis* (Lepidoptera: Noctuidae) é altamente suscetível ao milho *Bt* (Cry1Ab) (Van den Berg e Van Wyk 2006) desenvolvido para o controle de outros lepidópteros. Além disso, embora tenhamos verificado que a soja *Bt* não afetou a biologia de *S. eridania*, em campo outros fatores podem influenciar a ocorrência da praga como, por exemplo, as possíveis alterações na composição físico-química da planta (ex. alteração na concentração de aminoácidos, açúcares e lignina) ocasionado pelo processo de transgenia, como já verificado por Faria et al. (2007). De acordo com esse autor, a abundância da praga pode ser diretamente afetada, devido às características da composição da planta, tornando-as mais ou menos palatáveis às pragas não-alvo e consequentemente mais ou menos preferidas por essas pragas em campo, o que não foi avaliado no presente estudo, visto que não houve chance de escolha para a lagarta. Entretanto, para confirmar a possível ocorrência desse efeito, estudos complementares devem ser realizados para registrar e comparar a abundância da praga nas isolinhas de soja não *Bt* e *Bt* em condições de campo em grandes áreas.

Além dos possíveis efeitos diretos da planta *Bt* sobre a biologia e comportamento dos insetos, efeitos indiretos da adoção dessa tecnologia também podem ser observados. A adoção de culturas *Bt*, por exemplo, pode reduzir o uso de inseticidas utilizados nessas culturas (Sisterson et al. 2007). Assim como observado para a cultura do algodão no Arizona (Carpenter e Gianessi 2001, Cattaneo et al. 2006) é possível que ocorra também uma redução no uso de inseticidas nas áreas sojicultoras que irão adotar a soja MON 87701 x MON 89788. Por um lado, a redução do uso de inseticidas poderá fazer com que populações de *S. eridania*, que vinham sendo controladas pelos inseticidas aplicados para outras lagartas, como *A. gemmatilis* ou *C. includens*, venham a ser favorecidas e cresçam em importância. Por outro lado, essa redução de inseticidas poderá preservar os inimigos naturais e assim desfavorecer a ocorrência de *S. eridania* devido ao aumento do controle biológico natural. Qual dessas hipóteses realmente irá ocorrer após o cultivo comercial da soja MON 87701 x MON 89788 só poderá ser avaliado após a utilização comercial dessa tecnologia, pois são necessárias avaliações de campo em estudos com parcelas experimentais de grandes dimensões.

Neste contexto, é importante também considerar os possíveis impactos diretos da adoção da tecnologia *Bt* sobre os inimigos naturais visto que a aplicação de inseticidas a base de *B. thuringiensis* pode causar efeitos adversos no controle biológico

natural (Dutton et al. 2003). A aplicação de Dipel 2X (*B. thuringiensis* var. *kurstaki* HD-1) resultou em alto nível de mortalidade de fêmeas do ácaro predador *Metaseiulus occidentalis* (Acari: Phytoseiidae) após 48 horas de exposição ao produto (Chapman e Hoy 1991). A utilização de Dipel® reduziu a taxa de oviposição de outras duas espécies de ácaros predadores, *Amblyseius potentillae* e *Typhlodromus pyri* (Acari: Phytoseiidae) (Hassan et al. 1987). Entretanto, embora recentemente tenha sido realizada diversos experimentos para avaliar o impacto do *B. thuringiensis* sobre inimigos naturais (Yu et al. 2011) ainda são poucos os trabalhos realizados com parasitoides.

Nosso estudo demonstrou que, quando desenvolvido em ovos de *S. eridania* alimentadas com soja *Bt* (MON 87701 x MON 89788), o parasitoide *T. remus* tem seu parasitismo reduzido. O impacto negativo do *Bt* sobre parasitoides já foi registrado em outros estudos (Liu et al. 2005^a, 2005b; Zhang et al. 2006, Sanders et al. 2007), porém, ao contrário do nosso trabalho, essas pesquisas ocorreram com pragas suscetíveis ao *Bt*, o que provavelmente contribuiu para prejudicar o desenvolvimento do parasitoide.

Em condições de campo algumas espécies de *Trichogramma* apresentam hábito de onivoria, ou seja, podem alimentar-se de pólen de plantas. Isso foi evidenciado com a oferta de pólen proveniente de plantas *Bt*, expressando as proteínas Cry1Ac e Cry1Ab, sobre os aspectos biológicos de *Trichogramma ostrinae* e *T. chilonis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) respectivamente (Geng et al. 2006, Wang et al. 2007). Em sua maioria, as plantas *Bt* apresentam mais de um gene que codifica as toxinas ativas na forma solúvel, sendo assim o pH e as proteases do intestino médio não precisam ser específicas para a transformação da protoxina em subunidades tóxicas ao hospedeiro (Stotzky 2000) e por isso, teoricamente, um maior número de insetos poderia ser afetado pelas toxinas *cry* presentes nas plantas *Bt*. Mesmo assim, os resultados continuam variados na literatura. Lozzia and Manachini (2002), por exemplo, registraram em campo índices semelhantes de parasitismo por *Trichogramma* spp em ovos de *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) e *Osnitria nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae) em milho não *Bt* e geneticamente modificado, o que indica que mais estudos sobre a interação trófica (planta – praga - parasitoide de ovos), precisam ser realizados.

Assim, pode-se concluir que a soja *Bt* pouco interfere no desenvolvimento e reprodução de *S. eridania*, porém reduz o parasitismo de *T. remus* sobre os ovos desta praga. Com isso, as populações de *S. eridania* podem ser indiretamente impactadas no campo e, portanto, no manejo integrado de pragas da soja *Bt*, devendo ser

cuidadosamente monitoradas para serem controladas com outras táticas de manejo, se necessário.

5.5 Agradecimentos

À Embrapa Soja, às agências financiadoras Capes, CNPq e Fapesp pelo suporte financeiro e a Monsanto do Brasil Ltda por ceder as sementes utilizadas no estudo.

5.6 Referências citadas

- Adamczyk, J.J., S. Greenberg, J.S. Armstrong, W.J. Mullins, L.B. Braxton, R.B. Lassiter, and M.W. Siebert. 2008.** Evaluations of Bollgard®, Bollgard II®, and Widestrike® technologies against beet and fall armyworm larvae (Lepidoptera: Noctuidae). Fla. Entomol. 91: 531-536.
- Ali, M.I., R.G. Luttrell, and Young, S.Y. 2006.** Susceptibilities of *Helicoverpa zea* and *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) populations to Cry1Ac insecticidal protein. J. Econ. Entomol. 99: 64-175.
- Bernardi, O., G.S. Malvestiti, P.M. Dourado, W.S. Oliveira, S. Martinelli, G.U. Berger Head, G.P., and C. Omoto. 2012.** Assessment of the high –dose concept and level of control provided by MON 87701 x MON 89788 soybean against *Anticarsia gemmatilis* and *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. Pest. Manag. Sci. 68: 1083-1091.
- Bobrowski, V.L., L.M. Fiuza, G. Pasquali, and M.H. Bodanese-Zanettini. 2003.** Genes de *Bacillus thuringiensis*: uma estratégia para conferir resistência a insetos em plantas. Cienc. Rural. 34: 843-850.
- Bueno, R. C. O. F., A. F. Bueno, F. Moscardi, J. R. P. Parra, and C. B. Hoffmann-Campo. 2011.** Lepidopteran larva consumption of soybean foliage: basis for developing multiple-species economic thresholds for pest management decisions. Pest. Manag. Sci. 67: 160-164.
- Bueno, R.C.O.F., T. R. Carneiro, A. F. Bueno, D. Pratissolli, O. A. Fernandes, and S. S. Vieira, 2010.** Parasitism capacity of *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) on *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) eggs. Braz. Arch. Biol. Techn. 53: 133-139.

- Bueno, R.C.O.F., T. R. Carneiro, D. Pratissolli, A. F. Bueno, and O. A. Fernandes, 2010.** Biology and thermal requirements of *Telenomus remus* reared on fall armyworm *Spodoptera frugiperda* eggs. *Cienc. Rural*. 38: 1-6.
- Burr, I.W. and L.A. Foster. 1972.** A test for equality of variances. Mimeo Series No. 282. University of Purdue, West Lafayette, 26p.
- Carpenter, J. E. and L. P. Gianessi. 2001.** Agricultural Biotechnology: Updated Benefit Estimates. National Center For Food and Agricultural Policy. 1 - 48.
- Cattaneo, M.G., C. Yafuso, C. Schmidt, C.H. Huang, and M. Rahman. 2006.** Farm-scale evaluation of the impacts of transgenic cotton on biodiversity, pesticide use, and yield. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 103: 7571–7576.
- Chapman, M.H. and M.A. Hoy. 1991.** Relative toxicity of *Bacillus thuringiensis* var. *Tenebrionis* to the twospotted spider mite (*Tetranychus urticae* Kock) and its predator *Metaseiulus occidentalis* (Nesbitt) (Acari, Tetranychidae and Phytoseiidae). *J. Appl. Entomol.* 111: 147–154.
- CTNBio, Comissão Técnica Nacional de Biossegurança. 2010.** Liberação comercial de soja geneticamente modificada resistente a insetos e tolerante a herbicida, soja MON 87701 × MON 89788. gov.br/index.php/content/view/15558.html
- Delaney, K.J. 2012.** Nerium oleander indirect leaf photosynthesis and light harvesting reductions after clipping injury or *Spodoptera eridania* herbivory: High sensitivity to injury. *Plant. Sci.* 185-186: 218-226.
- Dutton, A., H. Klein, J. Romeis, and F. Bigler. 2003.** Prey-mediated effects of *Bacillus thuringiensis* spray on the predator *Chrysoperla carnea* in maize. *Biol. Control*. 26: 209–215.
- Embrapa – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária 2010.** Manejo integrado de pragas do algodoeiro no cerrado brasileiro. Circular Técnica 131. 1-37.
- Faria, C.A., F.L. Wackers, J. Pritchard, D.A. Barrett, and T.C.J Turlings. 2007.** High susceptibility of *Bt* maize to aphids enhances the performance of parasitoids of lepidopteran pests. *PLoS One*. 7: 1-11.
- Fehr, W. R. and C. E. Caviness. 1977.** Stages of soybean development. Ames: University of Science and Technology. Special Report 80: 11.
- Geng, J.-H., Z.-R. Shen, K. Song, and L. Zheng. 2006.** Effect of pollen of regular cotton and transgenic *Bt* CpTI cotton on the survival and reproduction of the parasitoid

wasp *Trichogramma chilonis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in the laboratory.

Environ. Entomol. 35: 1661–1668.

Greenberg, S.M., Y.X. Li, and T.X. Liu. 2010. Effect of age of transgenic cotton on mortality of lepidopteran larvae. Southwestern Entomol. 35: 261-268.

Hassan, S.A., F. Bigler, H. Bogenschutz, E. Boller, J. Brun, J.N.M. Calis, J. Coremans-Pelseneer, C.Duso, A. Grove, U. Heimbach, N. Helyer, H. Hokkanen, G. B. Lewis, F. Mansour, L. Moreth, L. Polgar, L. Samsoe-Petersen, B. Sauphanor, A. Staubli, G. Sterk, A. Vainio, M. V. Veire, G. Viggiani, and H.Vogt. 1987. Results of the 3rd joint pesticide testing program by the IOBC WPRS-Working group pesticides and beneficial organisms. J. Appl. Entomol. 103: 92-107.

Hutchison, W. D., E. C. Burkness, P. D., Mitchell, R. D. Moon, T. W. Leslie, S. J. Fleischer, M. Abrahamson, K. L. Hamilton, K. L. Steffey, M. E. Gray, R. L. Hellmich, L. V. Kaster, T. Hunt, R. J. Wright, K. Pecinovsky, T. L. Rabaey, B. R. Flood, and E. S. Saun. 2010. Areawide suppression of European corn borer with Bt maize reaps savings to non-Bt maize growers. Sci. 330: 222-225.

James, C. 2010. Global status of commercialized biotech/GM crops. Ithaca: ISAAA Briefs. 275 p.b

Kim, Y.S., J. Y. Roh, J. N. Kang, Y. Wang, H. J. Shim, M. S. Li, J. Y. Choi, and Y. H. Je. 2008. Mutagenesis of *Bacillus thuringiensis cryIAc* gene and its insecticidal activity against *Plutella xylostella* and *Ostrinia furnacalis*. Biol. Control. 47: 222–227.

Kouser, S., and Qaim, M. 2011. Impact of Bt cotton on pesticide poisoning in smallholder agriculture: A panel data analysis. Ecol. Econ. 70: 2105-2113.

Liu, X.X., C. G. Sun, and Q. W. Zhang. 2005a. Effects of transgenic Cry1A+CpTI cotton and Cry1Ac toxin on the parasitoid, *Campoletis chloridae* (Hymenoptera: Ichneumonidae). Insect. Sci. 12: 101-107.

Liu, X. X., Q. W. Zhang, J. Z. Zhao, Q. N. Cai, H. L. Xu, and J.C. Li, 2005b. Effect of the Cry1Ac toxin of *Bacillus thuringiensis* on *Microplitis mediator*, a parasitoid of the cotton bollworm (*Helicoverpa armigera*). Entomol. Exp. Appl. 114: 205–213.

Lovei, G. L., D. A. Andow, and S. Arpaia. 2009. Transgenic insecticidal crops and natural enemies: a detailed review of laboratory studies. Environ. Entomol. 38: 293-306.

Lozzia, G.C., and B. Manachini, 2002. Effects of transgenic corn on egg parasitism of *Ostrinia nubilalis* Hubner, (Lepidoptera: Crambidae) by *Trichogramma brassicae*

- Bezdenko (Hymenoptera: Trichogrammatidae). In: Egg parasitoids for biocontrol of insect pest. International Symposium, University of Perugia, 6.
- Lu, Y., K. Wu, Y. Jiang, Y. Guo, and L. Desneux. 2012.** Widespread adoption of *Bt* cotton and insecticide decrease promotes biocontrol services. *Nat.* 487: 362-367.
- Luttrell, R.G., L. Wan, K. Knighten. 1999.** Variation in susceptibility of noctuid (Lepidoptera) larvae attacking cotton and soybean to purified endotoxin proteins and commercial formulations of *Bacillus thuringiensis*. *J. Econ. Entomol.* 92: 21-32.
- Michereff-Filho, M., J. B. Torres, L. N. T. Andrade, and M. U. Nunes. 2008.** Effect of some biorational insecticides on *Spodoptera eridania* in organic cabbage. *Pest. Manag. Sci.* 64: 761-767.
- Miranda, R., F. Z. Zamudio, and A. Bravo. 2001.** Processing of Cry1Ab delta-endotoxin from *Bacillus thuringiensis* by *Manduca sexta* and *Spodoptera frugiperda* midgut proteases: role in protoxin activation and toxin inactivation. *Insect. Biochem. Molec.* 31: 1155-1163.
- Morales, J., J. S. Gallardo, C. Vásquez, and Y. Rios. 2000.** Patrón de emergência, longevidad, parasitismo y proporción sexual de *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae) com relación al cogollero del maíz. *Bioagro.* 12: 47-54.
- Naranjo, S.E. 2005.** Long-Term Assessment of the Effects of Transgenic *Bt* Cotton on the Abundance of Nontarget Arthropod Natural Enemies. *Environ. Entomol.* 34: 1193-1210.
- Pomari, A. F., A. F. Bueno, R. C. O. de F. Bueno, and A. O. M. Menezes. 2012.** Biological characteristics and thermal requirements of the biological control agent *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) reared on eggs of different species of the genus *Spodoptera* (Lepidoptera: Noctuidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 105: 73-81.
- Rahman, K., M. A. F. Abdullah, S. Ambati, M. D. Taylor, and M. J. Adang. 2012.** Differential protection of Cry1Fa toxin against *Spodoptera frugiperda* larval gut proteases by cadherin orthologs correlates with increased synergism. *Appl. Environ. Microbiology.* 78: 354-362
- Sanders, C.J., J. K. Pell, G. M. Poppy, A. Raybould, M. Garcia-Alonso, and T. H. Schuler. 2007.** Host-plant mediated effects of transgenic maize on the insect parasitoid *Campoletis sonorensis* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Biol. Control.* 40: 362-369.
- Santos, K.B., P. M. O. J. Neves, A. M. Meneguim. 2005.** Biologia de *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes hospedeiros. *Neotrop.*

Entomol. 34: 903-910.

Santos, K.B. dos, P. M. O. J. Neves, A. M. Meneguim, R. B. Santos, W. J. Santos, G. Villas Boas, V. Dumas, E. Martins, L. B. Praça, P. Queiroz, C. Colin Berry, R. Monnerat. 2009. Selection and characterization of the *Bacillus thuringiensis* strains toxic to *Spodoptera eridania* (Cramer), *Spodoptera cosmioides* (Walker) and *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Biol. Control. 50: 157-163.

SAS, 2001. User's Guide: Statistics, Version 6th ed. SAS Institute, Cary, NC.

Schnepf, E., N. Crickmore, J. Van Rie, D. Lereclus, J. Baum, J. Feitelson, D. R. Zeigler, and D. H. Dean. 1998. *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. Microbiol. Mol. Biol. R. 62: 775–806.

Shapiro, S.S., and M. B. Wilk. 1965. An analysis of variance test for normality. Biometrika 52: 591-611.

Siqueira, J.R. J. E. and Miranda. 2009. Espécies de *Spodoptera*: pragas não-alvo do algodão *Bt*. In. Congresso Brasileiro do Algodão, 7., 2009, Foz do Iguaçu. Anais...Campina Grande: EMBRAPA ALGODÃO, 2009. 423-427.

Sisterson, M.S., R. W. Biggs, N. M. Manhardt, Y. Carrière, T. J. Dennehy, and B. E. Tabashnik. 2007. Effects of transgenic *Bt* cotton on insecticide use and abundance of two generalist predators. Entomol. Exp. Appl. 124: 305–311.

Stotzky, G. 2000. Persistence and biological activity in soil of insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis* and of bacterial DNA bound on clays and humic acids. J. Environ. Qual. 29: 691-705.

Van den Berg, J., and A. Van Wyk. 2006. The effect of *Bt* maize on *Sesamia calamistis* in South Africa. Entomol. Exp. Appl. 122: 45-51.

Vojtech, E., M. Meissle, and G. M. Poppy. 2005. Effects of *Bt* maize on the herbivore *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) and the parasitoid *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae). Transgenic Res. 14: 133–144.

Wang, Z.Y., Y. Wu, K. L. He, and S. X. Bai. 2007. Effects of transgenic *Bt* maize pollen on longevity and fecundity of *Trichogramma ostrinae* in laboratory conditions. B. Insectol. 60: 49–55.

Whitehouse, M.E.A., L. J. Wilson, and G. A. Constable. 2007. Target and non-target effects on the invertebrate community of Vip cotton, a new insecticidal transgenic. Aust J Agr. Res. 58: 273–285.

Yu, H.L., H. L. Yun, H.L. and M W. Kong. 2011. Risk assessment and ecological effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* crops on non-target organisms. J. Integr. Plant Biol. 53: 520-538.

Zhang, S.Y., B. Y. Fie, J. Cui, and D. M. Li. 2006. Biology of *Campoletis chlorideae* (Uchida) (Hym., Ichneumonidae) developing in Bt-treated, Bt-resistant *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lep., Noctuidae) larvae. J. Appl. Entomol. 130: 268– 274.

Zhao, J.H., P. Ho, and H. Azadi. 2011. Benefits of Bt cotton counterbalanced by secondary pests? Perceptions of ecological change in China. Environ. Monit. Assess. 173: 985–994.

Tabela 1. Parâmetros biológicos de lagartas de *Spodoptera eridania* alimentadas com soja *Bt* e não *Bt* a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa (UR) de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Soja	Duração (dias) ¹		Peso de pupas (mg) ¹	Consumo foliar do 5º- 6º instares (cm ²) ¹	Sobrevivência (%) Larva-Adulto ¹
	Larva	Pupa			
Isolinha não <i>Bt</i>	23,2 \pm 0,2 a	10,1 \pm 0,3 ^{ns}	190 \pm 0,01 ^{ns}	122,2 \pm 7,4 ^{ns}	86,0 \pm 1,3 ^{ns}
MON 87701					
x	21,3 \pm 0,3 b	10,3 \pm 0,1	180 \pm 0,01	108,69 \pm 5,2	84,0 \pm 1,6
MON 89788					
CV (%)	2,07	4,42	6,57	12,43	11,24
GL _{resíduo}	6	6	6	8	6
F	31,67	0,40	0,77	2,23	0,65
P	0,0013	0,5526	0,4136	0,1740	0,5300

¹Médias \pm EPM seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de *t* ($p \leq 0,05$). ^{ns} ANOVA não significativa.

Tabela 2. Parâmetros biológicos de adultos de *Spodoptera eridania* provenientes de lagartas alimentadas com soja *Bt* e não *Bt* $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa (UR) de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Tratamento	Razão Sexual ¹	Longevidade (dias) ¹	
		Macho	Fêmea
Isolinha não <i>Bt</i>	$0,6275 \pm 0,0581^{\text{ns}}$	$12,6 \pm 0,2 \text{ b}$	$13,4 \pm 1,2^{\text{ns}}$
MON 87701 x MON 89788	$0,4375 \pm 0,0592$	$15,6 \pm 0,6 \text{ a}$	$15,2 \pm 1,1$
CV (%)	22,03	5,97	16,24
GL _{resíduo}	6	6	6
F	5,25	25,59	1,27
P	0,0619	0,0023	0,3023

Tratamento	Fecundidade (Ovos/fêmea) ¹	Viabilidade dos ovos (%) ^{1,2}
Isolinha não <i>Bt</i>	$911,85 \pm 101,81^{\text{ns}}$	$49,21 \pm 8,74^{\text{ns}}$
MON 87701 x MON 89788	$881,35 \pm 108,94$	$58,63 \pm 8,91$
CV (%)	23,52	22,17
GL _{resíduo}	6	6
F	0,04	0,60
P	0,8447	0,4689

¹Médias \pm EPM seguidas pela mesma letra na coluna do mesmo estágio de desenvolvimento do inseto não diferem entre si pelo teste de *t* ($p \leq 0,05$). ²Resultados originais seguidos da análise realizados com os dados transformados em $\arcsen \sqrt{X/100}$. ^{ns} ANOVA não significativa.

Tabela 3. Parâmetros biológicos de *Telenomus remus* desenvolvido em ovos de *Spodoptera eridania* provenientes de lagartas alimentadas em soja *Bt* e não *Bt* $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa (UR) de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Soja	Longevidade das fêmeas parentais (dias) ¹	Período ovo - adulto (dias) ¹	Parasitismo (%) ¹
Isolinha não <i>Bt</i>	$4,95 \pm 0,67^{\text{ns}}$	$13,10 \pm 0,21^{\text{ns}}$	$73,68 \pm 2,20\text{a}$
MON 87701 x MON 89788	$5,40 \pm 0,69$	$13,36 \pm 0,06$	$50,68 \pm 4,94\text{b}$
CV (%)	26,15	2,33	12,31
GL _{resíduo}	6	6	6
F	0,22	1,40	18,06
P	0,6548	0,2812	0,0054
Tratamento	Viabilidade do parasitismo (%) ¹	Razão Sexual ¹	
Isolinha não <i>Bt</i>	$76,35 \pm 2,74^{\text{ns}}$	$0,6587 \pm 0,0438^{\text{ns}}$	
MON 87701 x MON 89788	$75,58 \pm 4,38$	$0,7204 \pm 0,0522$	
CV (%)	9,61	13,96	
GL _{resíduo}	6	6	
F	0,02	0,82	
P	0,8864	0,3997	

¹Médias \pm EPM seguidas pela mesma letra na coluna do mesmo estágio de desenvolvimento do inseto não diferem entre si pelo teste de *t* ($p \leq 0,05$). ^{ns} ANOVA não significativa.

6. ARTIGO 2: PROTEÍNAS Cry1F, Cry1A.105 , Cry2Ab2 e Cry1Ac: EFEITOS SOBRE ASPECTOS BIOLÓGICOS DE *Spodoptera cosmioidea* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) NO MILHO E SOJA**Resumo**

Os aspectos biológicos de *S. cosmioidea* foram avaliados em condições controladas de temperatura ($25 \pm 1^\circ\text{C}$), umidade relativa ($60 \pm 10\%$) e fotofase (14 h) quando alimentadas com milho e soja contendo diferentes proteínas Cry e suas respectivas isolinhas. Foram conduzidos no total cinco bioensaios independentes sendo três destes com a cultura do milho avaliando os híbridos 2B688 (isolinha não *Bt*), 2B688 Herculex (Cry1F) e 2B688 PowerCore (Cry1F + Cry1A.105 + Cry2Ab2) e um bioensaio com a cultura da soja com as cultivares MON 87701 x MON 89788 (Cry1Ac) e sua isolinha não *Bt*. No primeiro e segundo bioensaios com milho, os tratamentos foram ofertados no 1º e 3º instares larvais, respectivamente. Em ambos os bioensaios houve 100% de mortalidade larval em todos os tratamentos antes da lagarta realizar a ecdise. Esse resultado comprova que o milho não é hospedeiro da praga, visto que não há qualquer sobrevivência larval mesmo no milho não *Bt*. No terceiro bioensaio com milho, os tratamentos foram ofertados a lagartas de 5º instar. Diferentemente dos resultados observados com o 1º e 3º instar, lagartas de 5º instar, inicialmente maiores ao entrar em contato com o milho, conseguiram desenvolver-se até o instar seguinte, quando também foi observado 100% de mortalidade em todos os tratamentos. Entretanto, como houve sobrevivência no 5º instar, mediu-se a área consumida, que na isolinha não *Bt* 2B688 foi superior (aproximadamente o dobro) da área consumida no milho *Bt* 2B688 Herculex (Cry1F) e 2B688 PowerCore (Cry1F + Cry1A.105 + Cry2Ab2). Esse resultado indica que qualquer dano observado em campo no milho *Bt* causado por *S. cosmioidea* é proveniente de lagartas que migraram para esta cultura, já desenvolvidas. Diferentemente do milho, a cultura da soja se mostrou um bom hospedeiro para o desenvolvimento de *S. cosmioidea* com sobrevivência larval superior a 80% na soja *Bt* e não *Bt*. Neste trabalho, a soja *Bt* (MON 87701 x MON 89788) não influenciou nos aspectos biológicos avaliados de *S. cosmioidea*, exceto para o peso de pupa (g) que foi inferior ao observado para os indivíduos desenvolvidos em soja não *Bt*. Portanto, *S. cosmioidea* tem um grande potencial como praga na cultura da soja, mesmo com o plantio da soja *Bt* MON 87701 x MON 89788.

Palavras-chave: Lagarta-das-vagens; resistência a insetos; plantas *Bt*, pragas não-alvo.

6.1 Introdução

Spodoptera cosmioides (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) é uma espécie polífaga cuja ocorrência restringe-se à América do Sul, com exceção do sul da Argentina, Chile e de regiões do Peru situadas a oeste dos Andes (Silvain e Lalanne-Cassou 1997). No Brasil, diversas culturas e plantas espontâneas são citadas como sua hospedeira (Bavaresco et al. 2004), entre elas o algodoeiro e a soja, entre outras, (Habib et al. 1983 Abdullah et al. 2000).

Na cultura do milho, esta praga vem sendo relatada ocorrendo no cartucho das plantas (Figueiredo et al. 2011) e sua ocorrência poderia ser agravada com a adoção do milho *Bt*, caso as proteínas Cry expressas pela planta, não controlem essa espécie. Diferentemente, na cultura da soja ainda não há plantas *Bt* sendo cultivadas, mas ataques de *S. cosmioides* são relatados há muitos anos no Brasil (Habib et al. 1983, Bavaresco et al. 2004) em algumas regiões, como por exemplo no Centro-Oeste do país, onde a espécie é considerada praga-chave na soja (Bueno et al. 2007). A praga ocasiona danos durante todo o ciclo desta cultura, mas sua importância é maior durante a fase reprodutiva, quando além das folhas ataca também as vagens da planta (Gazzoni e Yorinori 1995), ocasionando danos diretos (injúria) e indiretos (facilitando a entrada de patógenos).

O controle mais utilizado para manejo dessa praga nas mais diferentes culturas é a aplicação de inseticidas sintéticos (Cortez e Trujillo 1994). No entanto, *Spodoptera* spp. com frequência tem escapado aos efeitos desses agrotóxicos, devido a fatores como a tolerância natural, por estar em ínstares avançados ou por estarem protegidos no interior do dossel da planta no momento da aplicação (Morillo e Notz 2001, Melo et al. 2006). Neste cenário, a utilização de plantas geneticamente modificadas que expressam genes que codificam a expressão de proteínas Cry de *Bacillus thuringiensis* Berliner (plantas *Bt*) (CTNBio 2010) pode ser uma alternativa de manejo dessa praga. Estas proteínas são específicas para determinadas ordens (Clark et al. 2005) ou até para algumas espécies de insetos (Schnepf et al. 1998), com destaque aos lepidópteros-praga (Yu et al. 2011). Devido a sua grande eficiência, aliado à praticidade, atualmente o cultivo de plantas *Bt* é crescente no mundo (James 2010). A cultura do milho *Bt* é cultivada em larga escala mundial, visando à supressão populacional de diferentes lagartas (James 2010). A soja *Bt* (MON 87701 x MON 89788), que expressa a proteína Cry1Ac, foi recentemente desenvolvida pela empresa Monsanto Ltda. e está liberada,

devendo ser comercializada nas próximas safras no Brasil (Monsanto 2010, CTNBio 2010).

De modo geral, as espécies de *Spodoptera* são naturalmente tolerantes a Cry1Ac (presente na soja *Bt*) (Luttrell et al. 1999), entretanto sensíveis a Cry1F (presente em alguns milhos *Bt*) (Waquil et al. 2002). Porém, no recente cenário agrícola, onde é comum a sobreposição e sucessão de cultivos de soja e milho, é contínua a exposição de *S. cosmioides* a diferentes proteínas inseticidas de *Bt*, o que aumenta o risco de resistência cruzada, pois várias proteínas expressas em plantas *Bt* possuem o mesmo sítio de ação no intestino médio dos insetos (Ferré e Van Rie 2002). Neste contexto, a capacidade de *Spodoptera* spp. evoluírem para resistência a proteínas de *Bt* foi previamente reportada na literatura para linhagens de *Spodoptera exigua* (Hübner), *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) (Moar et al. 1995, Muller-Cohn et al. 1996) e *S. frugiperda* (Storer et al. 2010). Portanto, é de grande interesse teórico e prático conhecer os efeitos das diferentes proteínas presentes no milho e soja, além de outras culturas, sobre as pragas de importância crescente na América do Sul, como a *S. cosmioides*. Assim, neste trabalho avaliaram-se alguns parâmetros biológicos de *S. cosmioides* alimentadas com milho e soja *Bt* e suas respectivas isolinhas, com o objetivo de avaliar o impacto dessa tecnologia sobre essa praga.

6.2 Material e Métodos

6.2.1 Condições experimentais e procedência das lagartas

O estudo foi realizado em câmaras climatizadas do tipo BOD reguladas a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa (UR) de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h. As lagartas de *S. cosmioides* utilizados no estudo foram provenientes da criação da Embrapa Soja, onde foram criados de acordo com a metodologia descrita por Pomari et al. (2012) por aproximadamente 14 gerações.

6.2.2 Preparo e utilização das plantas de milho e soja nos bioensaios

As isolinhas de milho utilizadas no estudo foram disponibilizadas pela empresa DowAgroSciences, sendo um milho híbrido isolinha não *Bt* (2B688) e dois híbridos *Bt* (Herculex e PowerCore). O milho Herculex foi desenvolvido através da inserção do gene *cry1F*, enquanto o PowerCore, possui os genes *cry1A.105*, *cry2Ab2* e *cry1F* além de ser tolerante aos herbicidas glifosato e glufosinato devido também a expressão das

proteínas PAT e CP4 EPSPs (Santos et al. 2012) . A soja utilizada foi desenvolvida e disponibilizada pela empresa Monsanto do Brasil Ltda. Foram utilizadas as isolinhas de soja não *Bt* A5547 e a soja *Bt* MON87701 x MON89788, que expressa a proteína Cry1Ac para o controle de *Anticarsia gemmatilis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Erebidiae), *Chrysodeixis includens* (Walter, [1857]) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Heliothis virescens* (Fabrícus, 1781) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Crosidosema aporema* (Walsingham, 1914) (Lepidoptera: Tortricidae).

Em casa de vegetação foi realizada a semeadura das plantas em vasos de 8 L contendo terra esterilizada. Para cada isolinha utilizaram-se 15 vasos, onde foram colocadas cinco sementes em cada, totalizando 75 plantas/linhagem. O molhamento do substrato (terra esterilizada) ocorreu imediatamente antes e após a semeadura, de modo a garantir a distribuição homogênea da umidade dentro dos vasos. A vistoria e irrigação das plantas foram realizadas diariamente.

O manejo nutricional do milho foi realizado com adubação de sulfato de amônio [(NH₄)₂SO₄] seguindo as recomendações técnicas da região (Embrapa 1996). As técnicas de manejo fitossanitário (herbicidas, fungicidas ou inseticidas) não foram realizadas durante o ciclo desta cultura. Em relação à soja, procedeu-se semanalmente o controle de oídio, com aplicação de produto a base de enxofre (S) (Kumulus®), na dose de 0,5g.L⁻¹.

A coleta de folhas de milho utilizadas como ocorreu o a partir do estágio 2 (plantas com oito folhas distendidas) (Fancelli e Dourado Neto 2000) e foram cortadas em pedaços com área aproximada de 30 cm² para serem oferecidas as lagartas. Na soja, a coleta se deu a partir do estágio V7 (Fehr e Caviness 1977). Em seguida, as folhas de ambas as culturas foram submetidas a um processo de higienização, sendo submersas em solução de água e hipoclorito de sódio (5%) por 15 min. Após esse período foram retiradas da solução, enxaguadas e secas por 2 horas antes do material ser oferecido às lagartas.

6.2.3 Bioensaios 1 e 2: Aspectos biológicos de *S. cosmoides* de 1º e 3º ínstaes em milho *Bt* e não *Bt*

No bioensaio de 1º ínstar, lagartas recém-eclodidas (até 24 h de vida) foram individualizadas em copos parafinados de 150 mL em cada tratamento, com auxílio de um pincel de ponta fina (0,6 mm). Diferentemente, no bioensaio de 3º ínstar, as lagartas

recém-eclodidas foram alimentadas com dieta artificial (Greene et al. 1976) até atingirem o 3º ínstar, quando foram transferidas para os respectivos tratamentos.

Ambos os bioensaios foram conduzidos em delineamento experimental inteiramente casualizado, com três tratamentos (isolinha não *Bt* 2B688 e dois híbridos *Bt*, Herculex e PowerCore) e dez repetições compostas por oito lagartas individualizadas (80 lagartas.tratamento⁻¹). Dentro de cada copo foi ofertada uma área foliar de 30 cm².lagarta⁻¹. Na base de cada folha foi colocado um chumaço de algodão embebido em água, para retardar o ressecamento das folhas, que foram trocadas diariamente quando foi avaliado o ínstar larval e a taxa de mortalidade dos indivíduos.

6.2.4 Bioensaio 3: Aspectos biológicos e consumo foliar de *S. cosmioides* de 5º ínstar em milho *Bt* e não *Bt*

Seguindo a mesma metodologia descrita anteriormente para os bioensaios com *S. cosmioides* de 1º e 3º ínstar, as lagartas foram mantidas em dieta artificial até atingirem o 5º ínstar, quando foram individualizadas em copos parafinados e oferecidas a área foliar de milho para consumo.

Como houve sobrevivência larval das lagartas de 5º ínstar e consequentemente consumo foliar, a área consumida por *S. cosmioides* nos diferentes híbridos de milho foi medida. Paralelamente, utilizou-se uma testemunha (com ausência da praga) para avaliar a redução foliar devido a uma possível desidratação, que apresentou a média de 5% de redução da área foliar, permitindo corrigir a área consumida. As avaliações da área consumida pelas lagartas ocorreram diariamente utilizando-se o equipamento de medição foliar modelo LICOR 300 até os insetos morrerem ou cessaram a alimentação (Bueno et al. 2011). As folhas eram medidas antes de serem oferecidas às lagartas (área inicial) e 24 h após o início de seu consumo (área final)

6.2.5 Bioensaio 4: Parâmetros biológicos e consumo foliar de *S. cosmioides* em soja *Bt* e não *Bt*

Para a avaliação dos parâmetros biológicos, o delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com dois tratamentos e dez repetições compostas por oito lagartas individualizadas (80 lagartas.tratamento⁻¹). Em copos parafinados (150 mL), foram individualizadas 80 lagartas neonatas de *S. cosmioides* para cada tratamento, avaliando-se diariamente o ínstar larval, até atingirem a fase de pupa. As

folhas de soja foram colocadas *ad libitum*. No intervalo de 24 h após atingirem a fase de pupa, essas foram separadas por sexo, e posteriormente pesadas (g) em balança analítica. Após a pesagem, as pupas permaneceram individualizadas nos mesmos copos parafinados até a emergência dos adultos.

Após a emergência, a formação dos casais foi realizada com, no máximo, 24 h de diferença de idade entre os espécimes para avaliação dos parâmetros biológicos da fase adulta. As mariposas foram colocadas em gaiolas de tubo PVC (10 cm de diâmetro e 21,5 cm de altura), envoltas de um papel sulfite na face interna, para oviposição das fêmeas. Dentro de cada tubo, foi colocado um chumaço de algodão embebido com solução de água e mel (10%), destinado à alimentação das mariposas. Os ovos foram coletados diariamente, e colocados em placas de Petri, para posterior análise da fecundidade das fêmeas e viabilidade (%) dos ovos da praga desenvolvida em soja *Bt* e não *Bt*.

Para os teste de consumo foliar, o delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com dois tratamentos e cinco repetições ($n=10$ lagartas.repetição⁻¹). A coleta de folhas teve início a partir do estádio V₁₀ (Feher e Caviness 1977) da cultura da soja. O procedimento de profilaxia foliar, antes de serem oferecidas à praga, foi o mesmo descrito no item 6.2.2. Posteriormente, essas folhas foram oferecidas à lagartas de 5º ínstar de *S. cosmioides*, para comparar o consumo foliar em isolinhas de soja *Bt* e não *Bt*. Paralelamente, utilizou-se uma testemunha (com ausência da praga) para avaliar a redução foliar devido à desidratação, que apresentou a média de 5% de redução da área foliar, permitindo corrigir a área consumida. As avaliações ocorreram diariamente utilizando-se o equipamento de medição foliar modelo LICOR 300 até os insetos atingirem a fase de pré-pupa, quando cessaram a alimentação (Bueno et al. 2011).

6.2.7 Análise estatística

Os resultados dos diferentes bioensaios foram submetidos às análises exploratórias para avaliar as pressuposições de normalidade dos resíduos (Shapiro e Wilk 1965), a homogeneidade de variância dos tratamentos e a aditividade do modelo (Burr e Foster 1972) para permitir a aplicação da ANOVA. As médias foram então comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) para os ensaios com milho e pelo teste *t* de Student ($p \leq 0,05$) para o ensaio com soja (SAS Institute 2001).

6.3 Resultados

Lagartas de *S. cosmioides* de 1º e 3º ínstar, quando alimentadas com os híbridos de milho avaliados, não *Bt* e *Bt*, apresentaram 100% de mortalidade larval antes mesmo de realizar a ecdise (Tabela 1). Diferentemente, quando lagartas de 5º foram expostas aos tratamentos, conseguiram completar o ínstar com mortalidade similar entre os tratamentos e inferior a 23%. Mesmo assim, essas lagartas não conseguiram completar o 6º ínstar, quando foi observada 100% de mortalidade em todos os tratamentos, inclusive no híbrido de milho não *Bt* 2B688 (Tabela 1).

Apesar do milho não ter a qualidade hospedeira necessária para permitir a sobrevivência e desenvolvimento larval de *S. cosmioides*, os híbridos Herculex (Cry1F) e PowerCore (Cry1F + Cry1A.105 + Cry2Ab2) reduziram o tempo de sobrevivência das lagartas mais desenvolvidas (3º e 5º ínstar) que estavam se alimentando desses tratamentos, em comparação com o híbrido não *Bt* 2B688. Consequentemente, a área foliar consumida no 5º e 6º ínstar, até a morte das lagartas, foi de aproximadamente o dobro comparando-se o híbrido não *Bt* 2B688 com as isolinhas transgênicas (Tabela 1).

Ao contrário do milho, a soja foi um bom hospedeiro para o desenvolvimento de *S. cosmioides*, visto que foi observada sobrevivência superior a 80% na cultivar não *Bt* assim como na isolinha *Bt* MON 87701 x MON 89788. De forma geral, a soja *Bt* não influenciou os aspectos biológicos avaliados de *S. cosmioides*, que foram semelhantes entre os tratamentos para os parâmetros de duração do período larval e de pré-pupa e sobrevivência (%) do período larva-adulto. O peso de pupa de *S. cosmioides*, entretanto, foi numericamente inferior quando as lagartas foram alimentadas com a soja *Bt* (Tabela 2), não havendo porém diferença significativa entre os tratamentos. Apesar de pupas mais leves na soja *Bt*, o consumo foliar (Tabela 2) e os parâmetros biológicos avaliados nos adultos (razão sexual, longevidade, fecundidade e viabilidades dos ovos) (Tabela 3) não diferiram entre os tratamentos.

6.4 Discussão

Apesar de *S. cosmioides* ser uma praga polífaga, tendo sua ocorrência relatada em diferentes espécies de plantas cultivadas ou não (Bavaresco et al. 2004), incluindo plantas de milho (Figueiredo et al. 2011), os resultados observados nesse trabalho comprovam que o milho não é hospedeiro desta espécie de praga, visto que não há sobrevivência larval mesmo no híbrido não *Bt*.

O controle eficiente de *S. frugiperda* relatado no milho *Bt* (Waquil et al 2002, Fernandes et al. 2003) poderia disponibilizar o nicho ecológico ocupado por esta espécie para outras pragas-secundárias como *S. cosmioides*, por exemplo, visto que são do mesmo gênero e que sua ocorrência já foi relatada na cultura (Figueiredo et al. 2011). A presença de espécies de insetos pragas em detrimento de outras nas culturas muitas vezes está ligada à competição entre elas pelo nicho ecológico (Cassino et al. 1993). Assim a espécie *S. cosmioides* na cultura do milho poderia passar de praga-secundária para praga-chave.

Além da eliminação da praga-chave, dominante no nicho ecológico, surtos de pragas secundárias em culturas *Bt* podem ocorrer em consequência da redução do uso de inseticidas anteriormente utilizados para a praga-alvo da tecnologia *Bt*, que indiretamente estariam controlando a praga-secundária (Lu et al. 2012). No algodão *Bt*, por exemplo, a redução do uso de inseticidas variou entre 60 e 80% na China (Xia et al. 1999) e entre 27 e 61% nos EUA (Willian 1999). Portanto, assim como observado para a cultura do algodão, é possível que a redução de inseticidas para controle da *S. frugiperda* no milho *Bt* possa contribuir para a ocorrência de *S. cosmioides*.

Apesar das mudanças ocorridas nesse agroecossistema, ataques de *S. cosmioides* não devem ser preocupantes, já que a cultura do milho não apresenta qualidades hospedeiras suficientes para que a praga se desenvolva como demonstrado neste trabalho. Sendo assim, qualquer dano que vem sendo observado no campo em cultivos de milho *Bt*, causado por *S. cosmioides*, é proveniente de lagartas que migraram para esta cultura já desenvolvidas, visto que lagartas maiores (5º ínstar) conseguiram sobreviver até o 6º ínstar e assim, consumir área foliar desta planta mesmo do híbridos *Bt*.

É importante salientar que, além do milho não ser um hospedeiro de *S. cosmioides*, populações dessa praga podem ser reduzidas em agroecossistemas que adotem o milho *Bt* em decorrência de um maior controle biológico natural. Com a diminuição do uso de inseticidas em consequência da adoção da cultura *Bt*, pode haver um incremento do controle biológico natural e assim, reduzir a pressão exercida por pragas-secundárias nos cultivos que adotarem essa nova tecnologia. Xia et al. (1999) relataram que a redução do uso de inseticidas na China com adoção do algodão *Bt* resultou em um aumento de 24% na população de inimigos naturais dos insetos-pragas,

quando comparado com campos de plantas de algodão não modificados geneticamente que utilizaram o controle químico convencional.

O cenário com a adoção de plantas *Bt* na cultura da soja, entretanto, é diferente em relação à cultura do milho para a praga *S. cosmioidea*. Quando aspectos biológicos dessa espécie foram avaliadas utilizando-se soja *Bt* e não *Bt*, os resultados observados comprovam que essa tecnologia não tem impacto sobre a biologia da praga, sendo que, diferentemente do que foi verificado em milho, *S. cosmioidea* tem potencial para adquirir importância primária na soja, hipótese corroborada por Bueno et al. (2011). Esses autores, comparando o potencial de consumo foliar dos diferentes lepidópteros-praga que ocorrem em soja, verificaram que *S. cosmioidea* é capaz de consumir o dobro de área foliar que *A. gemmatilis*, *C. includens*, *S. frugiperda* e *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae).

A baixa toxicidade da proteína Cry1Ac para *S. cosmioidea* foi previamente relatada em trabalhos anteriores através da seleção de cepas de *Bt* para controle de lagartas do gênero *Spodoptera* (Santos et al. 2009), e em incorporação em dieta artificial (Luttrell et al. 1999). O não efeito do *Bt* sobre a biologia de *S. cosmioidea* pode ser explicado por duas hipóteses: 1) pela tolerância natural desses insetos à proteína Cry1Ac e 2) as baixas quantidades da proteína assim como uma possível ligação fraca da proteína ao intestino médio do inseto, como já relatado para *S. frugiperda* e *S. exigua* (Aranda et al., 1996, de Maagd et al., 2000). Esse maior nível de tolerância às proteínas de *Bt* aumenta a complexidade do manejo da resistência de *S. cosmioidea*. Sendo assim, considerando que as espécies de *Spodoptera* na soja sejam de importância crescente para a cultura (Bueno et al. 2011), a ocorrência desse complexo de espécies deverá ser monitorada com especial atenção, devido à sua tolerância a proteínas inseticidas de *Bt* e, provavelmente, será necessário o emprego de outra tática de controle quando a infestação a campo atingir o nível de ação.

Entretanto, além dos possíveis efeitos diretos da planta *Bt* sobre a biologia e comportamento dos insetos, efeitos indiretos da adoção dessa tecnologia também podem ser observados. Com o cultivo da soja *Bt*, há uma tendência de diminuição do uso de inseticidas, como observado para outras culturas (Sisterson et al. 2007). Assim espécies não controladas pela expressão da proteína de *Bt* poderão encontrar um cenário mais favorável ao seu desenvolvimento. Porém, é importante considerar que outros fatores podem influenciar na ocorrência da praga, como por exemplo, alterações na composição

físico-química da planta (Sanders et al. 2007), podendo alterar sua palatabilidade e/ou atratividade, que podem fazer com que plantas *Bt* sejam não preferidas para oviposição e/ou colonização. Ainda, a redução de inseticidas pode aumentar o controle biológico natural e assim diminuir a pressão de pragas na cultura (Bobrowski et al. 2003).

Além disso, em relação ao manejo da resistência de *S. cosmioidea* à essa tática de controle, a elevada sobrevivência da espécie na soja MON 87701 × MON 89788 a caracteriza como sendo um evento de baixa dose. Assim, a pressão de seleção para resistência em populações de *S. cosmioidea* na soja é baixa.

6.5 Conclusão

Há 100% de mortalidade de *S. cosmioidea* se alimentando de milho não *Bt* ou *Bt*. Portanto, o milho não é hospedeiro de *S. cosmioidea*, que não representa ameaça a sua produtividade. Entretanto, lagartas de 5º, apesar de não sobreviverem podem causar maior (milho não *Bt*) ou menor (milho *Bt*) desfolha.

A soja *Bt* e não *Bt* foram bons hospedeiros para o desenvolvimento de *S. cosmioidea* não influenciando sua biologia, sendo o potencial de crescimento dessa praga em soja *Bt* é bastante elevado

6.6 Agradecimentos

À Embrapa Soja, à agência financiadora Capes pelo suporte financeiro e às empresas Dow AgroScience e Monsanto do Brasil Ltda pelas sementes disponibilizadas para o estudo.

6.7 Referências bibliográficas

- Abdullah, M.D., O. Sarnthoy, S. Chaeychomsri, O. Sarnthoy. 2000. Comparative study of artificial diet and soybean leaves on growth, development and fecundity of beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae). Kasetart J. (Nat. Sci.). 34, 339-344.
- Aranda, E., Sanchez, J., Peferoen, M., Güereca, L., Bravo, A. 1996. Interactions of *Bacillus thuringiensis* crystal proteins with the midgut epithelial cells of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). J. Invertebr. Pathol. 68, 203-212.
- Bavaresco, A., Garcia, M.S., Grützmacher, A.D., Ringenberg, R., Foresti, J., 2004. Adequação de uma dieta artificial para a criação de *Spodoptera cosmioidea* (walk.) (Lepidoptera: Noctuidae) em laboratório. Neotrop. Entomol. 33, 155-161.

Bobrowski, V.L., Fiuza, L.M., Pasquali, G., Bodanese-Zanettini, M.H. 2003. Genes de *Bacillus thuringiensis*: uma estratégia para conferir resistência a insetos em plantas. Cienc. Rural. 34, 843-850.

Bueno, R, C.O, Bueno, A. F., Moscardi, F., Parra, J.R, Hoffmann-Campo C. B. 2011. Lepidopteran larva consumption of soybean foliage: basis for developing multiple-species economic thresholds for pest management decisions. Pest Manag. Sci. 67, 160-164.

Bueno R.C.O.F., PARRA J.R.P., Bueno A.F., Moscardi F., Oliveira J.R.G., Camillo M.F., 2007. Sem Barreira. Revista Cultivar. 55, 12–15.

Burr, I.W., Foster, L.A. 1972. A test for equality of variances. Mimeo Series No. 282. University of Purdue, West Lafayette, 26p.

Cassino, P.C.R., Perruso, J.C., Nascimento, F.N. 1993. Contribuição ao conhecimento das interações bioecológicas entre aleirodódeos (Homoptera; Aleyrodidae) e *Orthezia praelonga* Douglas, 1891 (Homoptera; Ortheziidae) no agroecossistema cítrico. An. Soc. Entomol. Bras. 22, 209-212.

Clark, B.W., Phillips, T.A., Coats, J.R., 2005. Environmental fate and effects of *Bacillus thuringiensis* (Bt) proteins from transgenic crops: a review. J. Agric. Food Chem. 53, 4643-4653.

Cortez, H.M., Trujillo, J.A., 1994. Incidencia del gusano cogollero y sus enemigos naturales em três agrosistemas de maiz. Turrialba. 44, 1-9.

CTNBio, 2010. Comissão Técnica Nacional de Biossegurança. Liberação comercial de soja geneticamente modificada resistente a insetos e tolerante a herbicida, soja MON 87701 × MON 89788, in: Parecer técnico nº 2542/2010. Disponível em: <<http://www.ctnbio.gov.br/index.php/content/view/15558.html>>. Acesso em: 05 out. 2012.

de Maagd, R.A., Wemen-Hendricks, M., Stiekema, W., Bosch, D. 2000. *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin Cry1C domain III can function as a specificity determinant for *Spodoptera exigua* in different, but not all, Cry1-Cry1C hybrids. Appl. Environ. Microbiol. 6, 1559-1563.

Embrapa, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. 1996. Recomendações técnicas para o cultivo do milho. 2.ed. Brasília, Distrito Federal. 204p.

Fancelli, A. L., Dourado Neto, D. Ecofisiologia e fenologia. In: Fancelli, A. L., Dourado Neto, D. Produção de milho. Guaíba: Agropecuária, 2000. p. 21-54.

Fehr, W. R., Caviness, C. E. 1977. Stages of soybean development. Ames: University of Science and Technology. Special Report 80: 11.

Fernandes, O.D., Parra, J.R.P., Neto, A.F., Picoli, R., Borgatto, A.F., Demétrio, C.G.B. 2003. Efeito do milho geneticamente modificado MON810 sobre a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). RBMS.2, 25-35.

Ferré, J., Van Rie, J. 2002. Biochemistry and genetics of insect resistance to *Bacillus thuringiensis*. Ann. Rev. Entomol. 47, 501-543.

Figueiredo, R.J. de, Cruz, I., Silva, R.B. da, Figueiredo, M.L.C., Sousa, L.P.S.P., Castro, A.L.G de. 2011. Aspectos biológicos de *Spodoptera cosmioides* (Walk.) (Lepidoptera: Noctuidae) alimentada com plantas de milho (*Zea mays* L.) cultivadas em diferentes concentrações de composto orgânico. Cadernos de Agroecologia. VII Congresso Brasileiro de Agroecologia, Fortaleza, Ceará.

Gazzoni, D.L.; Yorinori, J.T. 1995. Manual de identificação de pragas e doenças da soja. Embrapa . Spi. Brasília, Distrito Federal. 128p.

Greene, G.L., Leppla, N.C., Dickerson, W.A. 1976. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. J. Econ. Entomol. 69,487-488.

Habib, M.E.M., Paleari, L.M., Amaral, M.E.C. 1983. Effect of three larval diets on the development of the armyworm, *Spodoptera Latifascia* Walk., 1856 (Noctuidae, Lepidoptera). Rev. Bras. Zool. 1, 177-182.

James, C. 2010. Global status of commercialized biotech/GM crops. Ithaca: ISAAA Briefs. p.275.

Lu, Y., Wu, K., Jiang, Y., Guo, Y., and Desneux, L. 2012. Widespread adoption of *Bt* cotton and insecticide decrease promotes biocontrol services. Nat. 487, 362-367.

Luttrell R.G., Wan L., Knighten K. 1999. Variation in susceptibility of noctuid (Lepidoptera) larvae attacking cotton and soybean to purified endotoxin proteins and commercial formulations of *Bacillus thuringiensis*. J. Econ. Entomol. 92, 21-32.

Melo, E. P. D., Fernandes, M.G., Degrande, P.E. Raphael, M.A.C., Jorge, L., Salomão, F.N., Rodrigo, F.N. 2006. Distribuição espacial de plantas infestadas por *Spodoptera rfugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do milho. Neotrop. Entomol. 35, 689-697.

Moar, W.J., Pusztai-Carey, M., Van Faassen, H., Bosch, D., Frutos, R., Rang, C., Luo, K., Adang, M.J. 1995. Development of *Bacillus thuringiensis* Cry1c resistance by *Spodoptera exigua* (hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). Appl. Environ. Microbiol. 61, 2086-2092.

Monsanto. 2010. Monsanto Ltda. Monsanto obtém duas importantes aprovações na América Latina, in: Sala de Imprensa, Press Release. Disponível em: <
http://www.monsanto.com.br/sala_imprensa/includes/template_press_release.asp?noticiaId=73333333423333234342444423334344443347D163642111881D6622D6444D0825D41524999BBF>, Acesso em: 05 out. 2012.

- Morillo, F., Notz, A. 2001. Resistência de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a lambdacihalotrina y metomil. Entomotropica. 16, 79-87.
- Muller-Cohn, J., Chaufaux, J., Buisson, C., Gilois, N., Sanchis, V., Lereclus, D. 1996. *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to Cry1c and cross-resistance to other *Bacillus thuringiensis* crystal toxins. J. Econ. Entomol. 89, 791-797.
- Pomari, A. F. P., Bueno, A. F., Bueno, R. C. O. de F., and Menezes Jr, A. O. M. 2012. Biological characteristics and thermal requirements of the biological control agent *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) reared on eggs of different species of the genus *Spodoptera* (Lepidoptera: Noctuidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 105, 73-81.
- Sanders, C.J., Pell, J.K., Poppy, G.M., Raybould, A., Garcia-Alonso, M., and Schuler, T.H. 2007. Host-plant mediated effects of transgenic maize on the insect parasitoid *Campoletis sonorensis* (Hymenoptera: Ichneumonidae). Biol. Control. 40, 362-369.
- Santos, A.C., Rosseto, J, Marques, L. H. S. F. 2012. Geração Bt. Caderno Técnico Cultura do Milho. Cultivar Grandes Culturas. 161p.
- Santos, K.B. dos, Neves, P. .M.O.J., Meneguim, A.M., Santos, R.B., Santos, W.J., Villas Boas, G., Dumas, V., Martins, E., Praça, L.B., Queiroz, P., Colin Berry, C., Monnerat, R. 2009. Selection and characterization of the *Bacillus thuringiensis* strains toxic to *Spodoptera eridania* (Cramer), *Spodoptera cosmioides* (Walker) and *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Biol. Control. 50, 157-163.
- SAS, 2001. User's Guide: Statistics, Version 6e. Cary, 2001. 201p.
- Savoie, K.L. 1988. Selective feeding by species of *Spodoptera* (Lepidoptera: Noctuidae) in a bean field with minimum tillage. Turrialba 38: 67-70
- Schnepf, E., Crickmore, N., Van Rie, J., Lereclus, D., Baum, J., Feiltelson, J., Zeigler, D.R., Dean, D., 1998. *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 62, 775-806.
- Shapiro, S.S. and Wilk, M.B. 1965. An analysis of variance test for normality. Biometrika. 52, 591-611.
- Silvain, J. F., Lalanne-Cassou, B. 1997. Distinction entre *Spodoptera latifascia* (Walter) et *Spodoptera cosmioides* (Walker), bona species (Lepidoptera: Noctuidae). Revue Française d'Entomologie (nouvelle serie). 19, 95-97.
- Sisterson, M.S., Biggs, R.W., Manhardt, N.M., Carrière, Y., Dennehy, T.J., and Tabashnik, B.E. 2007. Effects of transgenic *Bt* cotton on insecticide use and abundance of two generalist predators. Entomol. Exp. Appl. 124: 305-311.
- Storer, N.P., Babcock, J.M., Schlenz, M., Meade, T., Thompson, G.D., Bing J.W., Huckaba, R.M. 2010. Discovery and characterization of field resistance to *bt* maize: *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in puerto rico. J. Econ. Entomol. 103, 1031-1038.

Xia, J.Y., Van Der Werf, W., Rabbinge, R. 1999. Influence of temperature on bionomics of cotton aphid, *Aphis gossypii*, on cotton. Entomol. Exp. Appl. 90, 25-35.

Yu, H.L., Yun, H.L., Kong, M.W. 2011. Risk assessment and ecological effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* crops on non-target organisms. J. Integrat. Plant Biol. 53, 520-538.

Waquil, J.M., Villela, F.M.F., Foster, J.E. 2002. Resistência do milho (*Zea mays* L.) transgênico (Bt) à lagarta-docartucho, *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) Revista Brasileira de Milho E Sorgo. 1, 1-11.

Willian, M.R. 1999. Cotton insect losses. Disponível em: < <http://www.msstate.edu/Entomology/CTNLOSS/1998loss.html>. Acesso em: 11 nov. 2012.

Tabela 1. Parâmetros biológicos de lagartas de *Spodoptera cosmioides* (Lepidoptera: Noctuidae) alimentadas com milho *Bt* e não *Bt* a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa (UR) de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Bioensaios 1 e 2			
Milho	Sobrevivência (dias) ¹		
	[Mortalidade %]		
	1º ínstar	3º ínstar	
2B688	1,7 ± 0,1 ^{ns} [100]	5,7 ± 0,2 a [100]	
2B688 Herculex	1,5 ± 0,1 [100]	4,0 ± 0,1 c [100]	
2B688 PowerCore	1,6 ± 0,1 [100]	4,7 ± 0,1 b [100]	
CV (%)	11,93	10,29	
GL _{resíduo}	27	27	
F	2,1	29,59	
P	0,142	0,0001	
Bioensaio 3			
Milho	Duração (dias) ¹		Consumo foliar
	[Mortalidade %]		
	5º instar	6º ínstar	
2B688	4,9 ± 0,1 ^{ns} [14,3]	- ² [100]	52,32 ± 2,35 a
2B688 Herculex	4,7 ± 0,1 [20,0]	- [100]	27,35 ± 1,81 b
2B688 PowerCore	4,6 ± 0,1 [22,9]	- [100]	21,87 ± 1,48 b
CV (%)	7,4	-	6,2
GL _{resíduo}	18	-	12
F	1,2	-	68,21
P	0,3229	-	0,0001

¹Médias \pm EPM seguidas pela mesma letra na coluna do mesmo estágio de desenvolvimento do inseto não diferem entre si pelo teste de *t* ($p > 0,05$). ²Parâmetro não existente. ^{ns}ANOVA não significativa.

Tabela 2. Parâmetros biológicos e consumo foliar de lagartas de *Spodoptera cosmioides* (Lepidoptera: Noctuidae) alimentadas com soja *Bt* e não *Bt* a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa (UR) de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Soja	Bioensaio 4			
	Duração (dias) ¹		Peso de pupas (g) ¹	Razão Sexual ^{1,2}
	Larva	Pré-pupa		
Isolinha não <i>Bt</i>	$33,0 \pm 0,3^{\text{ns}}$	$1,9 \pm 0,2^{\text{ns}}$	$0,26 \pm 0,1^{\text{ns}}$	$0,33 \pm 0,1^{\text{ns}}$
MON 87701 x				
MON 89788	$34,0 \pm 0,4$	$1,9 \pm 0,2$	$0,23 \pm 0,1$	$0,60 \pm 0,2$
CV (%)	2,4	22,7	5	32,75
GL _{resíduo}	6	6	6	6
F	0,72	0,54	0,79	1,85
P	0,38	0,41	0,42	0,17
Soja	Consumo foliar do 5º - 6º instares (cm ²) ¹			
	Sobrevivência (%) Larva - adulto			
Isolinha não <i>Bt</i>	$82,2 \pm 2,5^{\text{ns}}$		$133,9 \pm 18,8^{\text{ns}}$	
MON 87701 x				
MON 89788	$82,8 \pm 1,8$		$150,6 \pm 12,8$	
CV (%)	5,99		25,26	
GL _{resíduo}	6		6	
F	0,97		2,25	
P	0,38		0,18	

¹Médias \pm EPM seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de *t* ($p > 0,05$). ^{ns}ANOVA não significativa. ²Resultados originais seguidos da análise realizados com os dados transformados em $\sqrt{X + 1}$

Tabela 3. Parâmetros biológicos de adultos de *Spodoptera cosmioides* (Lepidoptera: Noctuidae) de lagartas alimentadas com soja *Bt* e não *Bt* a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa (UR) de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Soja	Bioensaio 4			
	Fecundidade (Ovos/fêmea)	Longevidade (dias) ¹		Viabilidade dos ovos (%) ²
		Macho	Fêmea	
Isolinha não <i>Bt</i> MON 87701 x MON 89788	903,69 \pm 96,35 ^{ns}	13,3 \pm 0,6 ^{ns}	14,3 \pm 1,0 ^{ns}	56,71 \pm 7,22 ^{ns}
CV (%)	19,59	14,65	15,33	18,47
GL _{resíduo}	6	6	6	6
F	2,21	1,22	0,93	1,52
P	0,35	0,45	0,52	0,32

¹Médias \pm EPM seguidas pela mesma letra na coluna do mesmo estágio de desenvolvimento do inseto não diferem entre si pelo teste de *t* ($p > 0,05$). ²Resultados originais seguidos da análise realizados com os dados transformados em $\sqrt{X + 1}$.

^{ns}ANOVA não significativa.

Artigo para submissão ao Periódico Plos One

7. ARTIGO 3: EFEITO DA SOJA *Bt* SOBRE *Euschistus heros* E SEU PARASITOIDE DE OVOS *Telenomus podisi*

Resumo

O cultivo de plantas que expressam proteínas inseticidas da bactéria *Bacillus thuringiensis* (plantas *Bt*) é um dos principais responsáveis pela redução do uso de inseticidas nas lavouras. Apesar disto, é ainda desconhecida a influência desta tecnologia sobre as pragas não-alvo, entre elas os insetos sugadores, e o impacto sobre seus inimigos naturais. Assim, este estudo objetivou avaliar o efeito da soja *Bt* (MON 87701 × MON 89788) que expressa a proteína Cry1Ac, sobre aspectos biológicos de *Euschistus heros* e seu parasitoide de ovos *Telenomus podisi*. A biologia da praga foi avaliada em condições controladas de temperatura ($25 \pm 2^\circ\text{C}$), umidade relativa ($60 \pm 10\%$) e fotofase (14 h). A partir do segundo ínstar, quando começa a atividade alimentar das ninfas, estas foram individualizadas em placas de Petri e alimentadas com vagens de soja (*Bt* e não *Bt*). Após a emergência, os adultos foram separados por sexo, pesados (g) e a largura do pronoto (mm) foi medida. Os casais foram acondicionados em caixas plásticas do tipo Gerbox® com grãos de soja para alimentação. Os parâmetros avaliados foram a viabilidade e fecundidade das fêmeas. Para a biologia de *T. podisi* foram oferecidos ovos de *E. heros* que se desenvolveram se alimentando de soja *Bt* e não *Bt* para cada fêmea com 24 h de idade. Os parâmetros avaliados para *E. heros* como a duração (dias) do estágio de ninfa, o peso (g), tamanho do pronoto (cm), a razão sexual, a fecundidade das fêmeas e viabilidade dos ovos (%) não diferiram entre os tratamentos. Para o parasitoide, a procedência do ovo do hospedeiro não ocasionou impacto sobre o período ovo-adulto, longevidade das fêmeas e parasitismo (% de ovos parasitados), sendo que apenas a razão sexual diferiu entre os tratamentos ($0,73 \pm 0,04$ e $0,55 \pm 0,05$ para soja não *Bt* e *Bt*, respectivamente). Esses resultados demonstram que a soja MON 87701 × MON 89788 não tem impacto significativo sobre os aspectos biológicos avaliados de *E. heros* e seu parasitoide de ovos *T. podisi*. Sendo assim, considerando uma possível redução no uso de inseticidas para lagartas com a adoção da tecnologia *Bt* na soja, essa praga precisa ser cuidadosamente monitorada para ser controlada sempre que atingir ou ultrapassar o nível de ação.

Palavras-chave: organismos geneticamente modificados; praga não-alvo; parasitoide de ovos

7.1 Introdução

A soja, [*Glycine max* (L.) Merrill], é uma oleaginosa pertencente a família Fabaceae, amplamente cultivada em diversos países (1) e, nesta cultura, lagartas e percevejos são atualmente as pragas que causam os danos mais severos (2). Entre os percevejos pentatomídeos que ocasionam perdas significativas (3;4), no Brasil destaca-se a espécie *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) por ser a de maior ocorrência nas lavouras além da maior dificuldade para o seu controle por apresentar resistência comprovada a diversos inseticidas (5;6).

Como mais uma alternativa para o controle de pragas na agricultura, tem-se atualmente o cultivo de plantas geneticamente modificadas resistentes a insetos (plantas *Bt*). Essas plantas expressam proteínas (Cry) provenientes da bactéria *Bacillus thuringiensis*. Estas proteínas por meio de ligações específicas na membrana ciliada do intestino medio das larvas causam a redução na alimentação e consequentemente inibição do desenvolvimento das larvas aumentando a taxa de mortalidade dos insetos, sendo Lepidoptera e Coleoptera as principais ordens de pragas-alvo destas proteínas (7). Para as culturas do milho e algodão *Bt*, entre outras, observou-se eficiente controle das principais pragas com a consequente diminuição do uso de inseticidas e aumento da produção (8; 9; 10). Para a cultura da soja *Bt* expressando a proteína Cry1Ac (MON 87701 × MON 89788), o seu controle é efetivo principalmente para as espécies *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) e *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Erebidae) (11), porém, por ser ainda uma tecnologia recente, são escassas as informações sobre o real impacto da adoção de plantas *Bt* nesse agroecossistema.

É importante salientar que, além da ação das plantas *Bt* em organismos-alvo (11; 12), é necessário saber se essas plantas inseticidas apresentam alguma interação com pragas não-alvo e seus inimigos naturais que podem ser expostos direta ou indiretamente às toxinas *Bt* por um longo período de tempo mesmo não sendo alvos diretos da tecnologia (13). Diversos estudos mostram que o cultivo de plantas *Bt*, proporciona o controle efetivo contra diversas pragas e uma crescente redução na aplicação de inseticidas [14; 15; 16; 17], o que favorece à diminuição no custo de produção, preservação de agentes de controle biológico, além de minimizar as consequências indesejáveis em termos de toxicidade ao homem, aos animais e ao meio ambiente [18]. Porém, a utilização de plantas transgênicas e sua consequente redução na intensidade do uso de inseticidas para as pragas-alvo pode permitir que determinadas

espécies-praga se tornem mais relevantes naquele ambiente agrícola [19]. Assim, o conhecimento da interação das espécies não-alvo (pragas e seus inimigos naturais) da soja com essa nova tecnologia, *Bt*, é de grande importância teórica e prática.

Neste contexto, o percevejo *E. heros* e seu inimigo natural *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Platygasteridae) serão, direta ou indiretamente, expostos ao se alimentarem em plantas de soja expressando a proteína Cry1Ac. *Telenomus podisi* é um parasitoide de ovos encontrado naturalmente em condições campo com preferência e alto potencial de controle de *E. heros* [20]. O sucesso de seu parasitismo, que pode chegar a 83% em condições naturais, depende de vários fatores, como por exemplo da capacidade de busca pelo hospedeiro [21]. *Euschistus heros* é um dos mais abundantes percevejos sugadores de sementes na América do Sul que danifica a soja quantitativamente e qualitativamente [22]. Assim, com este trabalho, objetivou-se estabelecer o efeito da soja *Bt* sobre a praga *E. heros* e seu parasitoide de ovos *T. podisi* para melhor compreensão da relação tritrófica do sistema soja *Bt*- praga- inimigo natural.

7.2 Material e Métodos

7.2.1 Condições experimentais e procedência dos percevejos e parasitoides de ovos

Esse estudo foi realizado em câmaras climatizadas do tipo BOD reguladas a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa (UR) de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h. Nessas condições foram conduzidos dois bioensaios, sendo um para avaliar o impacto da soja *Bt* sobre os aspectos biológicos de *E. heros* e um para avaliar o impacto da soja *Bt* sobre o parasitoide de ovos *T. podisi*. Os adultos e ovos de *E. heros* foram provenientes da criação de laboratório da Embrapa Soja estabelecida ao longo de aproximadamente 43 gerações [23]. Os parasitoides de *T. podisi* também foram provenientes do laboratório da criação de laboratório da Embrapa Soja, aonde estes insetos vem sendo criados ao longo de 27 gerações em posturas de *E. heros*, sob condições controladas de temperatura ($25 \pm 2^\circ\text{C}$), umidade relativa ($60 \pm 10\%$) e fotofase (14 h).

7.2.2 Preparo e utilização das plantas nos bioensaios

A soja utilizada foi desenvolvida e disponibilizada pela empresa Monsanto do Brasil Ltda. Foram utilizadas as isolinhas A5547 (soja não *Bt*) e MON 87701 x MON

89788, que expressa a proteína *Cry1Ac* (soja *Bt*). O material foi semeado em terra esterilizada, dentro de vasos plásticos (8 L), mantidos em casa de vegetação. Foram distribuídas cinco sementes em cada vaso, em um total de 25 vasos por linhagem de soja. Em relação aos tratos culturais, procedeu-se semanalmente o controle de oídio, com aplicação de produto a base de enxofre (S) (Kumulus®), na dose de 0,5 g.L⁻¹. No estádio V2 [24], realizou-se a adubação das plantas com fertilizante químico na formulação 0-20-20. A umidade dos vasos foi monitorada diariamente, e a irrigação das plantas ocorreu por gotejamento sempre que necessário.

As vagens foram coletadas a partir do estádio R6 [24] quando os grãos já estavam cheios. Antes de serem oferecidas aos percevejos, as vagens passavam por um processo de higienização, onde eram imersas por 15 min em solução de água e hipoclorito de sódio a 5%. Após esse período, as vagens foram retiradas da solução e secas por 2 horas até a evaporação da solução antes do material ser oferecido aos insetos.

7.2.3 Bioensaio 1: Aspectos biológicos de *E. heros* alimentados com soja *Bt* e soja não *Bt*

O ensaio foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado, com dois tratamentos (isolinhas A5547, soja não *Bt*, e MON 87701 x MON 89788, soja *Bt*) e 8 repetições compostas por 8 ninfas individualizadas (80 ninfas.tratamento⁻¹). Estas ninfas foram individualizadas em placas de Petri de 6 cm de diâmetro, forradas com papel filtro. A individualização ocorreu a partir do 2º ínstar, pois no primeiro, as ninfas apresentam comportamento gregário além de não se alimentarem. Para cada indivíduo foi oferecido uma vagem de soja e um tubo plástico do tipo Eppendorf® contendo água e tampado com algodão.

No intervalo de 24 h após a última ecdise os percevejos adultos foram pesados (g) com o auxílio de uma balança analítica, separados por sexo e posteriormente fotografados, para medir a largura do pronoto (mm) com uso do software Leica Apicate Suite 1.6.0. Posteriormente os casais foram acondicionados em caixas tipo Gerbox® com tampas perfuradas para permitir a entrada de ar, forradas com papel filtro junto com um tubo plástico do tipo Eppendorf® com água, fechado com algodão. Foram mantidos duas fêmeas e um macho por Gerbox®. A cada 48 horas, realizou-se a troca do papel filtro e do Eppendorf® e dos alimentos.

As avaliações ocorreram diariamente, com registro de mortalidade e duração da fase ninfal da praga. Para adultos foram avaliados o peso (g), largura do pronoto (mm), razão sexual, fecundidade das fêmeas e viabilidade dos ovos. Para avaliar a viabilidade dos ovos, estes foram retirados de cada Gerbox® acondicionados em placas de Petri (6 cm de diâmetro) e mantidos nas mesmas condições de temperatura, umidade e fotoperíodo que os adultos. Conforme as ninfas eclodiam, eram contadas para os posteriores cálculos de viabilidade.

7.2.4 Bioensaio 2: Aspectos biológicos de *T. podisi* em ovos de *E. heros* alimentados com soja *Bt* e não *Bt*

Os ovos de *E. heros* utilizados para o estudo da biologia de *T. podisi* foram provenientes de uma criação com metodologia igual à utilizada no estudo da biologia do percevejo-marrom, exceto pela utilização de caixas plásticas maiores, de 25 x 30 x 30 cm. Os ovos coletados das caixas foram armazenados em câmara de nitrogênio líquido a -196°C, o que não afetar a qualidade desses ovos pelo período de até 360 dias [25]. A coleta de ovos foi realizada até 60 dias para obtenção de quantidade suficiente de ovos para a realização do estudo.

Foram separados em média 25 ovos de cada tratamento, colados com cola atóxica em cartelas de cartolina branca (0,8 cm x 5 cm). O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado, com 35 repetições. Em cada repetição utilizou-se uma fêmea recém-emergidas (entre 24 h e 48 h) de *T. podisi* previamente acasalada e individualizada em tubos tipo Duran (1 cm x 6 cm), contendo no interior uma gotícula de mel, para alimentação do parasitoide. As cartelas foram individualmente introduzidas nos tubos, imediatamente vedados com filme plástico. O parasitismo foi permitido por 24 h e, após esse período, as cartelas foram retiradas e transferidas separadamente para tubos de vidro de fundo chato (8 cm x 2 cm de diâmetro), até a emergência dos adultos. As fêmeas também permaneceram em câmaras climatizadas, nas mesmas condições em que foram criadas. Os parâmetros avaliados foram a longevidade das fêmeas parentais (dias), período ovo-adulto (dias), porcentagem de parasitismo, viabilidade de parasitismo (emergência%) e razão sexual.

7.2.5 Análise estatística

Os resultados dos bioensaios foram submetidos às análises exploratórias para avaliar as pressuposições de normalidade dos resíduos [26] a homogeneidade de variância dos tratamentos e a aditividade do modelo [27] para permitir a aplicação da ANOVA. As médias foram então comparadas pelo teste *t* de Student ($p \leq 0,05$) [28].

7.3 Resultados

A duração (dias) e sobrevivência (%) da fase ninfal de *E. heros*, assim como o peso (g), tamanho do pronoto (cm), razão sexual e fecundidade da fase adulta e a respectiva viabilidade dos ovos obtidos não diferiram entre os tratamentos (Tabela 1). Esses resultados mostram que a soja MON 87701 \times MON 89788 expressando a proteína Cry1Ac, não tem interferência sobre os aspectos biológicos avaliados nas fases de ninfa e adulto dessa espécie de percevejo.

Semelhante aos resultados observados para os parâmetros biológicos de *E. heros*, a soja MON 87701 \times MON 89788 teve pouco impacto sobre o desenvolvimento do parasitoide de ovos *T. podisi*. De forma geral, o parasitismo (%), a viabilidade do parasitismo (%), o período ovo-adulto (dias), e longevidade das fêmeas parentais (dias) de *T. podisi* não diferiram entre os tratamentos em que foram ofertados ovos de *E. heros* alimentados com soja *Bt* e soja não *Bt*. Apenas a razão sexual dos parasitoides desenvolvidos em ovos de percevejos que se alimentaram de soja MON 87701 \times MON 89788 foi inferior ao valor observado para *T. podisi* que se desenvolveu em ovos de percevejos que se alimentaram da isolinha não *Bt* (Tabela 2).

7.4 Discussão

O presente estudo demonstrou que a adoção da soja MON 87701 \times MON 89788 não deverá afetar diretamente as populações do percevejo *E. heros* em campo pois esta espécie não teve seu desenvolvimento alterado quando alimentado com esta cultivar. Isto indica que, provavelmente, ambas isolinhas de soja testadas, MON 87701 \times MON 89788 (isolinha *Bt*) e A5547 (isolina não *Bt*), apresentaram a mesma qualidade nutricional para o desenvolvimento do inseto, visto que, os parâmetros biológicos avaliados não foram diferentes entre esses tratamentos.

É importante salientar que, em geral, nos alimentos de menor qualidade nutricional ou com a presença de antibióticos ou outras toxinas desfavoráveis ao inseto, há uma tendência do desenvolvimento ninfal ser mais longo, porque os insetos que se alimentaram do pior alimento irão apresentar um ganho de peso menor, levando mais tempo para atingir o peso crítico que desencadeará o processo de ecdise [29]. Essa diferença no desenvolvimento da fase ninfal não foi observada nesse experimento sendo a duração desse estágio em torno de 23 dias em ambas isolinhas avaliadas (*Bt* e não *Bt*). Esse tempo para o desenvolvimento das ninfas é inclusive semelhante ao observado anteriormente para esta mesma espécie na temperatura de 26°C tendo como alimento a mistura de soja e amendoim ($23,05 \pm 0,19$ dias) [30]. Essa não interferência da soja *Bt* na biologia de *E. heros* é também ratificada no peso de adultos que foi semelhante entre os tratamentos.

Em geral, o quinto instar ninfal é o período quando os percevejos estão mais sujeitos a essas possíveis alterações no ciclo biológico devido à maior ou menor qualidade nutricional do alimento em que se desenvolveram [31]. O quinto instar é considerado a fase mais crítica em todo o desenvolvimento ninfal dos percevejos porque várias transformações fisiológicas e morfológicas acontecem especialmente na forma e na estrutura biológica do inseto demandando uma intensa atividade bioquímica com a participação de enzimas e hormônios essenciais para a transformação em adulto. Sendo assim, esses insetos necessitam de maiores quantidades de nutrientes para o processo da muda e também para originar adultos com potencial reprodutivo máximo [29]. A fecundidade observada nos percevejos que se desenvolveram na soja MON 87701 × MON 89788 (166,44 ovos/fêmea) foi semelhante ao observado para as fêmeas que se desenvolveram na isolinha não *Bt* (200 ovos/fêmea), o que é ligeiramente inferior ao relatado na literatura [30] que foi em média 293,77 ovos/fêmea. Esse número de ovos menor em nossos estudos pode ser explicado devido ao trabalho de [30] utilizar além da vagem da soja, também grãos de amendoim como alimento, o que aumenta a capacidade reprodutiva do inseto [32].

Também foram relatadas razão sexual e sobrevivência ninfal semelhantes ao observado nesse trabalho que foi superior a 80%, ratificando mais uma vez a não interferência da soja MON 87701 × MON 89788 na biologia de *E. heros* [30]. É importante esclarecer que o maior ou menor impacto do alimento na mortalidade de ninfas de percevejos pode ser devido, além das características químicas do alimento,

também as característica física das sementes como pilosidade e distância entre a semente e a parede da vagem, por exemplo, que muitas vezes podem impedir ninfas pequenas de se alimentarem, levando-as a morte [29]. Esse parâmetro, entretanto, não foi fonte de variabilidade nesse estudo que utilizou a comparação entre isolinhas de soja (*Bt* e não *Bt*) isolando, portanto possíveis efeitos da proteína Cry1Ac expressos na soja MON 87701 × MON 89788.

Os resultados reportados na literatura com relação ao impacto direto de culturas *Bt* em organismos (pragas e seus inimigos naturais) não alvo da tecnologia são diversos em função da espécie estudada, o que ressalta a importância desse trabalho desenvolvido para *E. heros* e plantas de soja. Resultados semelhantes foram obtidos para outra espécie de percevejo praga, *Apolygus lucorum* (Hemiptera: Miridae), para a qual não foi verificada diferença na sobrevivência, fecundidade das fêmeas e outros parâmetros biológicos avaliados entre organismos desenvolvidos em algodão *Bt* e não *Bt* na China [33]. Portanto, esses autores concluíram que a ocorrência dessa praga (*A. lucorum*) em condições de campo não tem qualquer relação com o cultivo de plantas *Bt*, pois a abundância da praga foi a mesma em algodão *Bt* e não *Bt*. Resultados opostos foram obtidos para outra espécie de praga, o pulgão *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae), que mostrou um melhor desenvolvimento no que diz respeito a quantidade de indivíduos ápteros e alados, que foi maior em plantas não *Bt* comparado a plantas *Bt* [34]. Uma das justificativas para essa diferença é que, provavelmente as plantas de algodão *Bt* secretam uma menor quantidade de aminoácidos e açúcares, o que as tornam menos atrativas para os insetos herbívoros [35]. Além disso, outro fator importante na interferência ou não de plantas *Bt* no desenvolvimento de insetos não-alvo é a quantidade expressa da proteína no local de alimentação da praga. Muitos hemípteros se alimentam predominantemente de seiva do floema [36], assim podem ingerir apenas a quantidade de proteínas transportada por esse vaso [37].

Além dos efeitos diretos da tecnologia *Bt* na entomofauna da soja, os insetos pragas e seus inimigos naturais podem também estar sujeitos a efeitos indiretos da tecnologia. Com a adoção da soja *Bt* expressando a proteína Cry1Ac pode ser esperado uma redução do uso de inseticidas nessa cultura. No algodão *Bt*, por exemplo, a redução do uso de inseticidas variou entre 60 e 80% na China [38] e entre 27 e 61% nos EUA [39]. O controle das principais lagartas pragas da soja (*C. includens* e *A. gemmatilis*) pode acarretar uma possível redução no uso de inseticidas na soja o que pode

eventualmente favorecer a ocorrência de *E. heros* cujas populações eram negativamente impactadas pela aplicação dos inseticidas utilizados para controle de lagartas; por outro lado, a redução do uso de agrotóxicos pode preservar a ocorrência de inimigos naturais. Na China, com a redução do uso de inseticidas através da adoção do algodão *Bt*, o aumento na população de inimigos naturais de insetos-praga foi de 24%, quando comparado com campos de plantas de algodão não modificadas geneticamente com os campos que utilizaram algodão não *Bt* e o controle químico convencional [38]. Por isso, é importante avaliar o impacto da tecnologia *Bt* no controle biológico que poderá auxiliar na manutenção do equilíbrio das pragas não-alvo no agroecossistema. Neste contexto, já houve a proposta de se utilizar insetos pragas resistentes a proteínas *Bt*, para se avaliar os efeitos da proteína na biologia dos inimigos naturais, afim de se conduzir a análise dos riscos ecotoxicológicos desta tecnologia [40].

Em relação ao parasitoide de ovos *T. podisi*, de acordo com os resultados obtidos neste trabalho, pode-se inferir que sua capacidade de controle da espécie *E. heros* não é alterada em cultivos de soja MON 87701 × MON 89788, devido o parasitismo e a viabilidade dos ovos parasitados serem semelhantes entre esses tratamentos. Resultados semelhantes foram reportados na literatura para outros parasitoides. Por exemplo, não foi verificada diferenças no parasitismo de massas de ovos de *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae) pelos parasitoides *Eriborus terebrans* (Gravenhorst) e *Macrocentrus grandii* Goidanich em áreas de milho transgênico [41]. Outro inimigo natural, a espécie não-alvo *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae), um percevejo predador, também não teve sua sobrevivência e desenvolvimento afetados quando exposto a proteína Cry3Bb1 em dieta artificial [42].

O menor número de fêmeas de *T. podisi* observado na soja MON 87701 × MON 89788 pode, entretanto, desfavorecer o controle biológico nesse sistema e indicar uma menor qualidade nutricional dos ovos provenientes de percevejos que se alimentaram da soja *Bt*. A qualidade do hospedeiro é o principal fator que pode afetar a razão sexual de parasitoides de ovos do gênero *Trichogramma* [43]. Isto pode ocorrer como consequência da capacidade das fêmeas do parasitoide em diferenciar, entre as espécies de hospedeiro, macho ou fêmeas de acordo com a qualidade deste hospedeiro. Além disso, a razão sexual também pode estar relacionada com a capacidade de sobrevivência dos machos e fêmeas parasitoides no interior do ovo [43]. Entretanto, em condições de campo, outros fatores devem ser observados ao avaliar-se o favorecimento ou

desfavorecimento do controle biológico em um novo sistema agrícola. É sabido que parasitoides distinguem diferentes substâncias relacionadas à presença do hospedeiro, especialmente substâncias químicas [44; 45]. *Telenomus podisi* utiliza, principalmente, feromônios masculinos para localização dos ovos de *E. heros* [46], porém não se sabe se a ingestão de proteínas *Bt* pode interferir, por exemplo, nos voláteis liberados pela praga, o que poderia assim interferir na busca do hospedeiro pelo parasitoide. Além disso, a relação tritrófica deve ser considerada. Estudos mostram que *T. podisi* apresenta preferência por plantas danificadas por *E. heros* quando comparadas a plantas sadias [47], o que indica a necessidade de mais experimentos em condições de campo objetivando detalhar esses fatores.

Em geral, como não há interferência da soja MON 87701 × MON 89788 sobre a praga *E. heros*, é possível que, em campo, haja um crescimento populacional desta espécie em detrimento da diminuição do uso de inseticidas para o controle das pragas-alvo da cultura *Bt*, assim como observado para a praga *A. lucorum* em algodão *Bt* na China [33], entre outras, em países como a Austrália, E.U.A, África do Sul, Índia e China [14; 15; 48; 49; 50; 51], por exemplo. Entretanto, o controle biológico realizado por *T. podisi* poderá auxiliar a manter as populações de *E. heros* sob controle na soja MON 87701 × MON 89788, visto que esse agente de controle biológico não é impactado negativamente por essa tecnologia. Este efeito poderia reduzir a necessidade de aplicação de inseticidas para controle de percevejos, o que teria efeitos na taxa de evolução da resistência ao inseticida [52] que é frequentemente observado em populações de *E. heros* no Brasil [5; 6]. Sendo assim, conclui-se que não há efeitos diretos da adoção da soja MON 87701 × MON 89788 sobre a biologia de *E. heros* e *T. podisi*. Entretanto, efeitos indiretos ainda precisam ser avaliados em grandes áreas e em condições de campo; o poderá ser realizado em experimentos futuros conduzidos após a comercialização dessa tecnologia.

7.5 Agradecimentos

À Embrapa Soja, Monsanto do Brasil Ltda, a Capes, a Cnpq e a Fapesp pelo suporte dado para o desenvolvimento deste trabalho.

7.6 Referências

1. Roese AD, Romani RD, Furlanetto C, Stangarlin JR, Portz RL (2001). Levantamento de doenças na cultura da soja em municípios da região oeste do estado do Paraná. *Acta Scientiarum* 23:1293-1297.
2. Gamundi JC, Sosa M.A (2008). Caracterización de daños de chinches em soja y critérios para La tomada de decisiones de manejo. Em Trumper EV Edelstein JD (Eds) *Chinches fitófagas em soja. Revisión y avances em El estudio de su ecologia y manejo*, Ediciones INTA, Manfredi. 29-148.
3. Panizzi AR (1997). Wild hosts of pentatomids: ecological significance and role in their pest status crops. *Annual Review of Entomology*. 42: 99-122.
4. Panizzi AR., Duo LJS, Botolato NM; Siqueira F (2007). Nymph developmental time and survivorship, adult longevity, reproduction and body weight of *Dichelops melacanthus* (Dallas) feeding on natural and artificial diets. *Revista Brasileira de Entomologia*. 51: 484-488.
5. Sosa-Gómez D, Silva J (2010). Neotropical brown stink bug (*Euschistus heros*) resistance to methamidophos in Paraná, Brazil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. Doi 10.1590/S0100-204X2010000700019.
6. Saluso A, Xavier L, Silva FAC, Panizzi AR (2011). An Invasive Pentatomid Pest in Argentina: Neotropical Stink Bug, *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae). *Scientific Note. Neotropical Entomology*. 40: 704-705.
7. Yu HL, Yun HL, Kong MW (2011). Risk assessment and ecological effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* crops on non-target organisms. *Journal of Integrative Plant Biology*. 53: 520-538.
8. Gonzales-Nunez M, Ortego F, Castanera P (2000). Susceptibility of Spanish populations of the Corn Borers *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae) to a *Bacillus thuringiensis* endotoxin. *J. Economic Entomology*. 93: 459–463.
9. Pray CE; Huang J, Hu R, Rozelle S (2002). Five years of *Bt* cotton in China – the benefits continue. *The Plant Journal*. 31: 423-430.
10. Sanvido O, Romeis J, Bigler F (2009). Na approach for post-market monitoring of potential environmental effects of *Bt*-maize expressing Cry1Ab on natural enemies. *Journal of Applied Entomology*. 133: 236-248.

11. Bernardi O, Malvestiti GS, Dourado PM, Oliveira WS, Martinelli S, Berger GU, Head GP, Omoto C (2012). Assessment of the high –dose concept and level of control provided by MON 87701 x MON 89788 soybean against *Anticarsia gemmatilis* and *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. *Pest Management Science*. 68: 1083-1091.
12. Homrich MS, Passaglia LMP, Pereira JF, Bertagnolli PF, Salvadori JR, Nicolau M, Kaltchuk-Santos E, Alves LB, Bodanese-Zanettini MH (2008). Agronomic performance, chromosomal stability and resistance to velvetbean caterpillar of transgenic soybean expressing *cryIAC* gene. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 43: 801-807
13. Andow DA, Hilbeck A (2004). Science-based risk assessment for non-target effects of transgenic crops. *BioScience*. 54: 637-649.
14. Sharma HC, Ortiz R (2000). Transgenics, pest management, and the environment. *Current Science*. 79: 421–437.
15. Wu K (2001). IPM in cotton. In: Jia S (ed) *Transgenic cotton*. Science Press. 1:218–224.
16. Sisterson MS, Biggs RW, Manhardt NM, Carrière Y, Dennehy TJ, Tabashnik BE (2007). Effects of transgenic *Bt* cotton on insecticide use and abundance of two generalist predators. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 124: 305–311.
17. Kouser S, Qaim M (2011). Impact of Bt cotton on pesticide poisoning in smallholder agriculture: A panel data analysis. *Ecological Economics*. 70: 2105-2113.
18. Loguercio LL, Santos CG, Barreto MR, Guimarães CT, Paiva E (2001). Association of PCR and feeding bioassays as a large-scale method to screen tropical *Bacillus thuringiensis* isolates for a cry constitution with higher insecticidal effect against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *Letters in Applied Microbiology*. 32: 362-367.
19. Wu K, Mu W, Liang G, Gou Y (2005). Regional reversion of insecticide resistance in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) is associated with the use of Bt cotton in northern China. *Pest Management Science*. 61: 491-498.

20. Laumann RA, Aquino MF, Moraes MC, Pareja M, Borges M (2009). Response of the egg parasitoids *Trissolcus basalis* and *Telenomus podisi* to compounds from defensive secretions of stink bugs. *Journal of Chemical Ecology*. 35: 8-19.
21. Pacheco D.J.P., Corrêa-Ferreira, B.S. (2000). Parasitism by *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae) on the soybean stink bugs population. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*. 29: 295-302.
22. Panizzi, A.R., F. Slansky Jr. (1985). Review of phytophagous pentatomids (Hemiptera: Pentatomidae) associated with soybean in the Americas. *Florida Entomology*. 68:184-214.
23. Panizzi AR, Parra JRP, Santos CH, Carvalho DR. (2000). Rearing the southern green stink bug using artificial dry diet and artificial plant. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 35: 1709-1715.
24. Fehr, W. R.; Caviness, C. E. (1977). Stages of soybean development. Ames: University of Science and Technology. Special Report 80: 11.
25. Corrêa-Ferreira BS, Oliveira MCN (1998). Viability of *Nezara viridula* (L.) eggs for parasitism by *Trissolcus basalis* (Woll.), under different storage techniques in liquid Nitrogen. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*. 27: 101-107.
26. Shapiro, S.S.; Wilk, M.B. (1965). An analysis of variance test for normality. *Biometrika* 52: 591-611.
27. Burr, I.W., Foster, L.A. (1972). A test for equality of variances. Mimeo Series No. 282. University of Purdue, West Lafayette, 26p.
28. SAS, 2001. User's Guide: Statistics, Version 6e. Cary, 2001. 201p.
29. Panizzi, A.R., Parra, J.R.P. (1991). Ecologia nutricional dos insetos e suas implicações no manejo de pragas. Ediotra Manole Ltda, São Paulo. 253-289.
30. Cividanes, F. J., Parra, J.R.P. (1994). Biologia em diferentes temperaturas e exigências térmicas de percevejos pragas da soja. II *Euschistus heros* (Fabr.) (Heteroptera: Pentatomidae). *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 29: 1841-1846
31. Panizzi, A.R., Rossini, M.C. (1987). Impacto de várias leguminosas na biologia de ninfas de *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae). *Revista Brasileira de Biologia*. 47: 507-512.
32. Siqueira, F. (2007). Adição de frutos de *Ligustrum lucidum* ait. (oleaceae) em dieta artificial seca para a criação do percevejo marrom *euschistus heros* (f.)

- (heteroptera: pentatomidae). Curitiba, PR. 58f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Universidade Federal do Paraná, UFPR.
33. Li G, Feng H, McNeil JN, Liu B, Chen P, Qiu F (2011). Impacts of transgenic *Bt* cotton on a non-target pest, *Apolygus lucorum* (Meyer-Dür) (Hemiptera: Miridae), in northern China. *Crop Protection*. 30: 1573-1578.
 34. Fernandes FS, Ramalho FS, Nascimento Junior JL, Malaquias JB, Nascimento ARB, Silva CAD, Zanuncio JC (2012). Within-plant distribution of cotton aphids, *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae), in *Bt* and non-*Bt* cotton fields. *Bulletin of Entomological Research* 102: 79–87.
 35. Yan WD, Shi WM, Li BH, Zhang M (2007). Overexpression of a foreign *Bt* gene in cotton affects the low-molecular-weight components in root exudates. *Pedosphere*. 17: 324-330.
 36. Douglas AE (2003). The nutritional physiology of aphids. *Insect Physiology*. 31: 73–140.
 37. Romeis J, Meissle M (2011). Non-Target risk assessment of *Bt* crops –Cry protein uptake by aphids. *Journal Applied Entomology* 135: 1-6. 20.
 38. Xia, J.Y., Van Der Werf, W., Rabbinge, R. (1999). Influence of temperature on bionomics of cotton aphid, *Aphis gossypii*, on cotton. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 90: 25-35.
 39. Willian, M.R. 1999. Cotton insect losses 1979-1996. Disponível em <:http://www.msstate .edu/Entomology/CTNLOSS/1998loss.html.> Acesso em: 25 ago. 2012.
 40. Frizzas, M.R., Oliveira, C. M. (2006). Plantas transgênicas resistentes a insetos e organismos não-alvo: predadores, parasitoides e polinizadores. *Universitas: Ciências da Saúde*. 4: 63-82.
 41. Orr, D.B.; Landis, D.A. (1997). Oviposition of european corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) and impact of natural enemy populations in transgenic versus isogenic corn. *Journal of Economic Entomology*. 90: 905-909.
 42. Duan JJ, Teixeira D, Huesing JE, Jiang C (2008). Assessing the Risk to Nontarget Organisms from *Bt* Corn Resistant to Corn Rootworms (Coleoptera: Chrysomelidae): Tier-I Testing with *Orius insidiosus* (Heteroptera: Anthracoridae). *Environmental Entomology*. 37: 838-844.

43. Vinson, S. B. (1997). Comportamento de seleção hospedeira de parasitoides de ovos, com ênfase na família Trichogrammatidae. In: PARRA, J. R. P., and R. A. ZUCCHI (Eds.), *Trichogramma e o Controle Biológico Aplicado*. FEALQ Piracicaba, pp. 67-120.
44. Wackers FL, Lewis WJ (1994). Olfactory and visual learning and their combined influence on host site location by the parasitoid *Microplitis croceipes* (Cresson). *Biological Control*. 4: 105-112.
45. Larsson MC, Svensson GP (2004). Methods in insect sensory ecology. In: Hristensen, T.A. (Ed.). *Methods in insect sensory neuroscience*. Boca Raton. 25-55.
46. Silva CC, Moraes MCB, Lauman RA, Borges M (2006). Sensory response of the egg parasitoid *Telenomus podisi* to stimuli from the bug *Euschistus heros*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 41: 1093-1098.
47. Lopes ANS, Diniz IR, Moraes MCB, Borges M, Lauman RA (2012). Defesas induzidas por herbivoria e interações específicas no sistema tritrófico soja-percevejos-parasitoides de ovos. *Nota Científica. Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 47: 875-878.
48. Wilson L, Hickman M, Deutscher S (2006). Research update on IPM and secondary pests. In: *Proceedings of the 13th Australian Cotton Research Conference*, Broadbeach, Queensland, Australia, 249–258.
49. Williams MR (2006). Cotton insect losses 2005. In: *Proceedings of the Beltwide Cotton Conferences*, National Cotton Council, Memphis, 1151–1204.
50. Gouse M, Pray C, Schimmelpfenning D (2004). The distribution of benefits from *Bt* cotton adoption in South Africa. *The Journal of Agrobiotechnology Management and Economics*. 7: 187–194.
51. Lu YH, Wu KM, Jiang YY, Xia B, Li P, Feng HQ, Wychhuys KAG, Guo YY (2010). Mirid bug outbreaks in multiple crops correlated with wide-scale adoption of *Bt* cotton in China. *Science* 328: 1151–1154.
52. Chilcutt, C. F., Tabashnik, B.E. (1999). Simulation of integration of *Bacillus thuringiensis* and the parasitoid *Cotesia plutellae* (Hymenoptera: Braconidae) for control of susceptible and resistant diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). *Environmental Entomology*. 28: 505-512.

Tabela 1. Parâmetros biológicos de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) alimentados com soja *Bt* e não *Bt* a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa (UR) de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Soja	Ninfa		Adultos	
	Duração (dias) ¹	Sobrevivência (%)	Peso (g) ¹	Tamanho do pronoto (cm) ¹
Isolinha não <i>Bt</i>	$23,39 \pm 0,19^{\text{ns}}$	$83,19 \pm 0,71^{\text{ns}}$	$0,0721 \pm 0,001^{\text{ns}}$	$8,07 \pm 0,22^{\text{ns}}$
MON 87701 x MON 89788	$23,15 \pm 0,16$	$82,65 \pm 0,69$	$0,0725 \pm 0,0021$	$8,25 \pm 0,08$
CV (%)	1,51	8,4	4,5	4,13
GL _{resíduo}	6	7,2	6	6
F	0,93	7,6	0,03	0,62
P	0,3723	0,5196	0,8676	0,4614
Soja	Adultos			Viabilidade dos ovos
	Razão Sexual ¹	Fecundidade ¹		
Isolinha não <i>Bt</i>	$0,5675 \pm 0,1372^{\text{ns}}$	$200 \pm 17,62^{\text{ns}}$		$75,97 \pm 0,05^{\text{ns}}$
MON 87701 x MON 89788	$0,7375 \pm 0,0952$	$166,44 \pm 24,62$		$68,57 \pm 0,05$
CV (%)	20,56	14		9,06
GL _{resíduo}	6	10		5,09
F	1,11	4,96		5,32
P	0,3336	0,5254		0,4356

¹Médias \pm EPM seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de *t* ($p \geq 0,05$). ^{ns} ANOVA não significativa.

Tabela 2. Parâmetros biológicos de *Telenomus podisi* desenvolvido em ovos de *Euschistus heros* provenientes de percevejos alimentados em soja *Bt* e não *Bt* a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa (UR) de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Soja	Longevidade das fêmeas parentais (dias) ¹	Período ovo - adulto (dias) ¹	Parasitismo (%) ²
Isolinha não <i>Bt</i>	$19,66 \pm 0,43^{\text{ns}}$	$15,07 \pm 0,26^{\text{ns}}$	$24,99 \pm 2,4^{\text{ns}}$
MON 87701 x MON 89788	$16,46 \pm 0,47^{\text{ns}}$	$15,2 \pm 0,31$	$19,13 \pm 2,8$
CV (%)	14,18	5,11	31,33
GL _{resíduo}	12	12	12
F	5,31	0,10	2,52
P	0,2345	0,7533	0,1385
Soja	Viabilidade do parasitismo (%) ¹	Razão Sexual ¹	
Isolinha não <i>Bt</i>	$81,03 \pm 3,3^{\text{ns}}$	$0,73 \pm 0,04$ a	
MON 87701 x MON 89788	$73,08 \pm 4,7$	$0,55 \pm 0,05$ b	
CV (%)	14	9,87	
GL _{resíduo}	12	6	
F	1,9	4,75	
P	0,1936	0,0150	

¹Médias \pm EPM seguidas pela mesma letra na coluna do mesmo estágio de desenvolvimento do inseto não diferem entre si pelo teste de *t* ($p \leq 0,05$). ^{ns} ANOVA não significativa. ²Dados transformados em $(\sqrt{X} + 1)$. ²Dados transformados em $\log x$.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

No atual contexto agrícola, onde os cultivos de plantas geneticamente modificadas resistentes a insetos (*Bt*) tem sido cada vez mais aceitos por agricultores, existem diferentes possibilidades de ocorrência de pragas, sendo de considerável importância conhecê-las a fim de um melhor manejo da cultura. Assim, este trabalho permitiu estabelecer a influência de plantas *Bt*, milho e soja, sobre alguns organismos não-alvo, sendo eles pragas ou inimigos naturais.

Com a adoção de plantas *Bt*, as espécies de lagartas do gênero *Spodoptera*, *S. cosmioides* e *S. eridania* não são controladas por essa tecnologia e, portanto, apresentam grande potencial de se tornarem pragas chaves na cultura da soja. Isso deverá ocorrer porque muitos dos inseticidas aplicados atualmente para *Anticarsia gemmatilis* ou *Chrysodeixis includens* também controlam essas lagartas do gênero *Spodoptera*. Com a adoção da soja *Bt* esses inseticidas deverão ser menos utilizados, oferecendo melhores condições para o crescimento populacional de *Spodoptera* spp. na soja. Além disso, a soja *Bt* apresentou um efeito negativo no parasitoide de ovos *Telenomus remus*, o que pode contribuir ainda mais para o aumento populacional de lagartas desse gênero nesta cultura.

Da mesma forma, o sugador *Euschistus heros*, já considerado praga principal da cultura, também não é controlado pela soja *Bt*, havendo a necessidade de constante monitoramento da praga nesta nova condição de campo. Assim, uma hipótese, levantada pelo presente trabalho para o futuro cenário de grandes cultivos de soja *Bt*, é que *S. cosmioides*, *S. eridania* e *E. heros* venham a ser as pragas de ainda maior relevância por não serem afetadas pela proteína tóxica expressa pela planta.

Porém, neste mesmo cenário, há a possibilidade de que, com a redução do uso de inseticidas químicos, haja uma menor eliminação de agentes de controle biológico, como os parasitoides de ovos *Telenomus remus* e *T. podisi*, entre outros. Assim, este outro método de controle, o biológico, poderá auxiliar na contenção de populações de pragas não controladas pela soja *Bt*.

Já para o milho, a espécie *S. cosmioides* não apresenta risco de se tornar praga-primária, tanto para cultivos *Bt* como para cultivos não *Bt*. Porém, mesmo não completando seu ciclo de vida, é possível que, nos últimos instares larvais, ocorra a migração desta espécie de plantas hospedeiras alternativas para a cultura do milho, causando injúrias.

Assim, em um cenário de sucessão de cultivos de soja e milho, não deverá ocorrer pressão de seleção cruzada entre as proteínas presentes em ambas as plantas, não devendo haver migração de *S. cosmioides* da soja para milho, visto que esta última não se mostrou com boa qualidade hospedeira para permitir o desenvolvimento dessa praga.

Finalmente, os resultados obtidos com o presente trabalho mostram que o cultivo de plantas *Bt*, mesmo sendo eficientes para as pragas-alvo, pode abrir espaço para a ocorrência de novas pragas em determinadas cultivos. Porém é importante salientar que outros estudos devem ser realizados a fim de se estabelecer um manejo de pragas adequado para cada sistema produtivo, além da necessidade de palnejamento agrícola para que se evitem futuros problemas com plantas transgênicas.